

Aus der Klinik und Poliklinik für Radiologie  
Klinik  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. Jens Ricke

**Untersuchungen an Microcarriern zum Transport von  
Chemotherapeutika durch das arterielle System**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Kathrin Lerch  
aus Ochsenhausen

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Maximilian Reiser

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Lars Lindner  
Prof. Dr. Ernst Wagner  
Prof. Dr. Michael Medros y Schnitzler

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 31.01.2019



**Für Mama und Papa**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. <u>Einleitung</u></b>	<b>3</b>
<b>2. <u>TACE: transarterielle Chemoembolisation</u></b>	<b>4</b>
2.1: Begriffsdefinition	
2.2: Anwendungsgebiete	
2.3: Indikationen und Kontraindikationen	
2.4: Technik	
2.5: Nebenwirkungen	
2.6: Einsatzgebiete der TACE	
2.6.1 TACE bei hepatocellulärem Karzinom (HCC)	
2.6.2 TACE bei metastasiertem Primärtumor mit Lebermetastasen	
2.7 : Vorteile der drug-eluting TACE im Vergleich zur konventionellen TACE (cTACE)	
<b>3. <u>Experimenteller Teil</u></b>	<b>27</b>
3.1: Fragestellung und Zielsetzung	
3.2: Anfertigung eines Maßstabes	
3.3: Material und Methoden der Vorversuche	
3.3.1: Beladung der HepaSpheres mit königsblauer Tinte	
3.3.2: Auswaschversuch der Tinte mit Natriumchlorid 0,9%	
3.3.3: Beladung der HepaSpheres mit Methylenblau	
3.3.4: Testung der osmotischen Resistenz mit destilliertem Wasser	
3.4: Material und Methoden des experimentellen Teils mit den HepaSpheres	
3.4.1: Beladung der HepaSpheres mit Epirubicin	
3.4.2: Testen der mechanischen Belastbarkeit der mit Epirubicin beladenen Sphären	
3.4.3: Testen der osmotischen Resistenz der beladenen Spähren mit Leitungswasser	
3.4.4: Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron	

3.4.5: Beladung der HepaSpheres mit Rifampicin

3.4.6: Beladung der HepaSpheres mit Ferritin

3.4.7: Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12

---

**4. Ergebnisse** **50**

4.1: Ergebnisse der Vorversuche

4.1.1: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit königsblauer Tinte

4.1.2: Ergebnisse des Auswaschversuchs der Tinte mit Natriumchlorid 0,9%

4.1.3: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Methylblau

4.1.4: Ergebnisse der Testung der osmotischen Resistenz mit destilliertem Wasser

4.2: Ergebnisse des experimentellen Teils der Beladung der HepaSpheres

4.2.1: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Epirubicin

4.2.2: Auswertung und Interpretation des Elutionsverhaltens der HepaSpheres im Vergleich zu den DC Beads

4.3: Ergebnisse der mechanischen Belastbarkeit der mit Epirubicin beladenen Sphären

4.4: Ergebnisse der osmotischen Resistenz der beladenen Sphären mit Leitungswasser

4.5: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron

4.6: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Rifampicin

4.7: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Ferritin

4.8: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12

---

**5. Diskussion** **69**

---

**6. Zusammenfassung** **71**

---

**7. Abbildungsverzeichnis** **74**

---

**8. Anhang mit Literaturverzeichnis** **80**

---

**9. Danksagung** **88**

## 1. Einleitung

---

Die aktuelle Tumorthherapie basiert heutzutage auf mehreren Säulen und ist längst nicht mehr nur Aufgabe einer Fachrichtung. Vielmehr hat jeder Patient ein interdisziplinäres Ärzteteam an seiner Seite, das einen fächerübergreifenden Behandlungsplan erstellt, um so das bestmögliche Therapieverfahren individuell für jeden Patienten herauszuarbeiten. In speziellen Tumorzentren arbeiten Spezialisten aller Fachrichtungen eng zusammen, um dem Patienten eine Chance auf Heilung zu ermöglichen.<sup>1</sup>

Meist basiert dieser Therapieplan auf den drei Säulen Chemotherapie (neoadjuvant, adjuvant), Strahlentherapie und einer operativen Therapie im Sinne einer Resektion oder Teilresektion der tumorbefallenen Areale.<sup>2 3</sup>

In den letzten Jahrzehnten hat sich für verschiedene Tumorarten ein neues Behandlungskonzept im klinischen Alltag etabliert: Die TACE- transarterielle Chemoembolisation. Sie stellt vor allem eine Option bei Leberkarzinom; hier insbesondere beim hepatozellulären Karzinom (HCC) dar, kommt aber auch bei hepatisch metastasierten Primärtumoren zum Einsatz.<sup>4 5</sup>

Eingesetzt und entwickelt wurde dieses Verfahren erstmals von Goldstein et al. 1976.<sup>6</sup>

Ziel dieser Therapie ist es, dem Patienten ein schonendes minimalinvasives Therapieverfahren mit möglichst geringen Nebenwirkungen zu ermöglichen. Es eignet sich vor allem zur palliativen Therapie oder bei Patienten mit potentiell resektablem Tumor zum down-staging des Tumors. Das Grundprinzip der TACE lässt sich folgendermaßen erklären: Kleine Microcarrier, mit einem Durchmesser von wenigen Mikrometern werden mit einem spezifischen Chemotherapeutikum beladen und dann über einen Katheter direkt in der Arteria hepatica platziert.<sup>4 5 7</sup>

Die TACE weist gegenüber einer klassischen Chemotherapie zwei entscheidende Vorteile auf: Zum einen wird durch die Applikationsart über einen Katheter das Embolisationsmaterial über die Arteria femoralis bis in die Arteria hepatica gespritzt, so dass die klassischen Nebenwirkungen einer konventionellen systemischen Chemotherapie, wie zum Beispiel Übelkeit, Erbrechen, Alopezie, Diarrhoe oder Panzytopenie fast komplett ausbleiben. Die Nebenwirkungen nach einer TACE-Behandlung sind vielmehr Fieber oder Oberbauchschmerzen. Bei einigen Patienten kann es auch zum Post-Embolisationssyndrom bis hin zum Leberversagen kommen.<sup>8</sup>

Des weiteren kann durch die mit einem Chemotherapeutikum beladenen Microcarrier ein gefäßokkludierender Effekt im Bereich der tumorversorgenden Arterie bewirkt werden, so dass die Blutzufuhr zum Tumor gestoppt werden kann und es in Folge der lokalen Ischämie zur Tumornekrose kommt.<sup>5</sup>

Da es sich bei Tumorpatienten oftmals um alte, multimorbide Patienten handelt, ist dieses

Therapieverfahren hier bestens geeignet, da es für den Patienten besonders schonend ist.

Verschiedene Studien konnten in ihren Untersuchungen ein deutliches Downstaging des Tumors beziehungsweise der Metastasen sowie einen signifikanten Überlebensvorteil bezogen auf das Gesamtüberleben bei der Behandlung mittels TACE beweisen.<sup>9 10</sup>

In dieser Arbeit soll vor allem die Kinetik und das Elutionsverhalten einer neuen Marke von Microcarriern untersucht werden: Die HepaSpheres der Firma Merit Medical wurden in mehreren Versuchen mit verschiedenen Substanzen beladen, an einen simulierten Körperkreislauf angeschlossen und dann über Messungen der Extinktion überprüft in welchem Zeitraum die Carrier das Therapeutikum in welchem Ausmaß wieder abgeben. Diese Ergebnisse wurden dann in ein Diagramm aufgetragen, so dass eine Extinktionskurve erstellt werden konnte. Während des Be- und Entladungsvorganges wurden einzelne Carrier entnommen und unter dem Mikroskop fotografiert, um so einen Überblick über deren Verhalten hinsichtlich Form, Größe und Belastbarkeit zu gewinnen.

Außerdem sollten die HepaSpheres mit bereits im klinischen Alltag etablierten Microcarriern verglichen werden, um so die Vor- und Nachteile sowie das Be- und Entladeverhalten der Sphären besser klassifizieren zu können. Hierfür kamen die DC Beads der Marke Terumo in Frage, da sie in der klinischen Radiologie bereits seit vielen Jahren erfolgreich für die transarterielle Chemotherapie verwendet werden.

Des weiteren stand zur Diskussion, ob es auch möglich sei, die HepaSpheres mit einer anderen Substanz, die für den klinischen Alltag relevant sein könnte, zu beladen. Hierbei wurden Vitamin B12, Ferritin und Rifampicin verwendet.

## **2. TACE: transarterielle Chemoembolisation**

### **2.1 und 2.2: Begriffsdefinition und Anwendungsgebiete**

---

TACE ist das Synonym für transarterielle Chemoembolisation. Sie findet ihren Einsatz bereits seit Ende der 1970er Jahre in der Onkologie, vor allem in der palliativen Behandlung von Leberzellkarzinomen, wie zum Beispiel dem hepatozellulären Karzinom (HCC) oder dem cholangiozellulären Karzinom (CCC), wenn das Tumorgewebe nicht reseziert werden kann oder eine vorausgegangene Chemotherapie erfolglos geblieben ist.<sup>11</sup> Erstmals wurde sie 1976 von

Goldstein et al in der Patientenversorgung angewendet.<sup>12</sup>

Ein weiteres Einsatzgebiet bietet die TACE bei Lebermetastasen anderer Primärtumoren, wie zum Beispiel dem Mammakarzinom, Cholangiozellulärem Karzinom, Pankreaskarzinom, GIST-Tumoren, Lungenkarzinom und Larynxkarzinom. Unter anderem kamen in einer polnischen Pilotstudie von 2011 bereits HepaSpheres mit einer Größe zwischen 50-100µm zum Einsatz.<sup>13</sup> Durch die TACE kann die Konzentration des Chemotherapeutikums im Bereich des Tumors erhöht und eine Okklusion des Gefäßes durch die Microcarrier erreicht werden. Es existieren verschiedene Microcarrier in verschiedenen Größen, welche mit unterschiedlichen Chemotherapeutika beladen werden können.<sup>14</sup>

Die TACE wird ebenfalls zur Überbrückung der Wartezeit für Patienten, die auf der Transplantationsliste stehen, als häufigstes Bridging Verfahren eingesetzt. Ziel dieser Behandlung ist es, das Überleben nach der Transplantation zu verbessern, das erneute Auftreten eines HCC nach der Transplantation zu verhindern und zu vermeiden, dass die Patienten vorzeitig von der Transplantationsliste genommen werden. Insgesamt konnten mit diesem Therapieverfahren Tumornekrosen von 27 bis 57% erreicht werden.<sup>15</sup>

### 2.3: Indikationen und Kontraindikationen

---

Alle Patienten, für die eine transarterielle Chemoembolisation in Frage kommt, müssen bestimmte Voraussetzungen erfüllen: Hierzu zählen unter anderem eine offene Vena portae, das Fehlen einer Aszites, eine gute Leberfunktion, eine ausreichende Perfusion beider Leberlappen und ein guter Allgemeinzustand des Patienten.<sup>11</sup>

Folgende Kriterien sind als relative Kontraindikationen zu werten: Leberzirrhose Child B, Tumorbefall >50%, hoher Zellumsatz (LDH-, Transaminasenerhöhung), extrahepatischer Befall, Niereninsuffizienz, Pfortaderthrombose, TIPS (transjugulärer intrahepatischer portosystemischer (Stent-) Shunt).

Absolute Kontraindikationen sind das Vorliegen einer Leberzirrhose Child C, Tumorbefall >75%, floride Infektionen, Verschlussikterus und das Vorliegen einer kardiopulmonalen Insuffizienz.<sup>16</sup>

Die Microcarrier werden mit einem spezifischen Chemotherapeutikum (z.B Epirubicin,

Doxorubicin, Mitoxantron) beladen und über ein Kathetersystem unter radiologischer Überwachung über die Arteria femoralis direkt in die tumorversorgenden Gefäßen der Leber injiziert. Durch die Embolisation der tumorversorgenden Gefäße kommt es auf Grund der lokalen Ischämie zur Tumornekrose.

Andererseits wird das Therapeutikum direkt im Bereich des Tumors appliziert. Durch die direkte Applikation des Chemotherapeutikums in die Leberarterie wird dort eine bis zu 100fach höhere Konzentration erreicht. Gleichzeitig wird das gesunde Lebergewebe geschont und die systemischen Nebenwirkungen werden minimiert. Durch diese beiden Effekte kann eine maximale Tumornekrose erzielt werden.<sup>17</sup>

Durch die spezielle Anatomie der Leber ist die TACE für den Patienten in jeder Hinsicht ein schonenderes Verfahren als eine konventionelle Chemotherapie: 75% der Blutversorgung der gesunden Leber erfolgt über die Pfortader, lediglich 25% über die Leberarterie. Da Lebertumoren ihre Blutversorgung zu 90-95% aus den Leberarterien beziehen, also hypervaskulär sind, hat sich die Anwendung der TACE hier als vorteilhaft erwiesen.<sup>18 19</sup>

#### 2.4: Technik und Durchführung des Eingriffs

---

Bisher gibt es noch keine einheitlichen, standardisierten Richtlinien für die Behandlung mittels TACE, obwohl sich die TACE mittlerweile gut im Klinikalltag etabliert hat. Im Bezug auf die Emolisationsmaterialien, deren Größe und der Katheterwahl gibt es immer noch verschiedene Ansichten und leider noch keine international anerkannten Guidelines. Als Chemotherapeutika eignen sich im Wesentlichen Doxorubicin (150mg), Mitomycin C (15mg), Carboplatin (300mg), Cisplatin (50-100mg), Oxaliplatin (50mg), Irinotecan (200mg) und 5-Fluoruracil (400-450mg). Es besteht zudem die Möglichkeit Zytostatikakombinationen anzuwenden.<sup>16</sup>

Die Durchführung des Eingriffs läuft folgendermaßen ab:

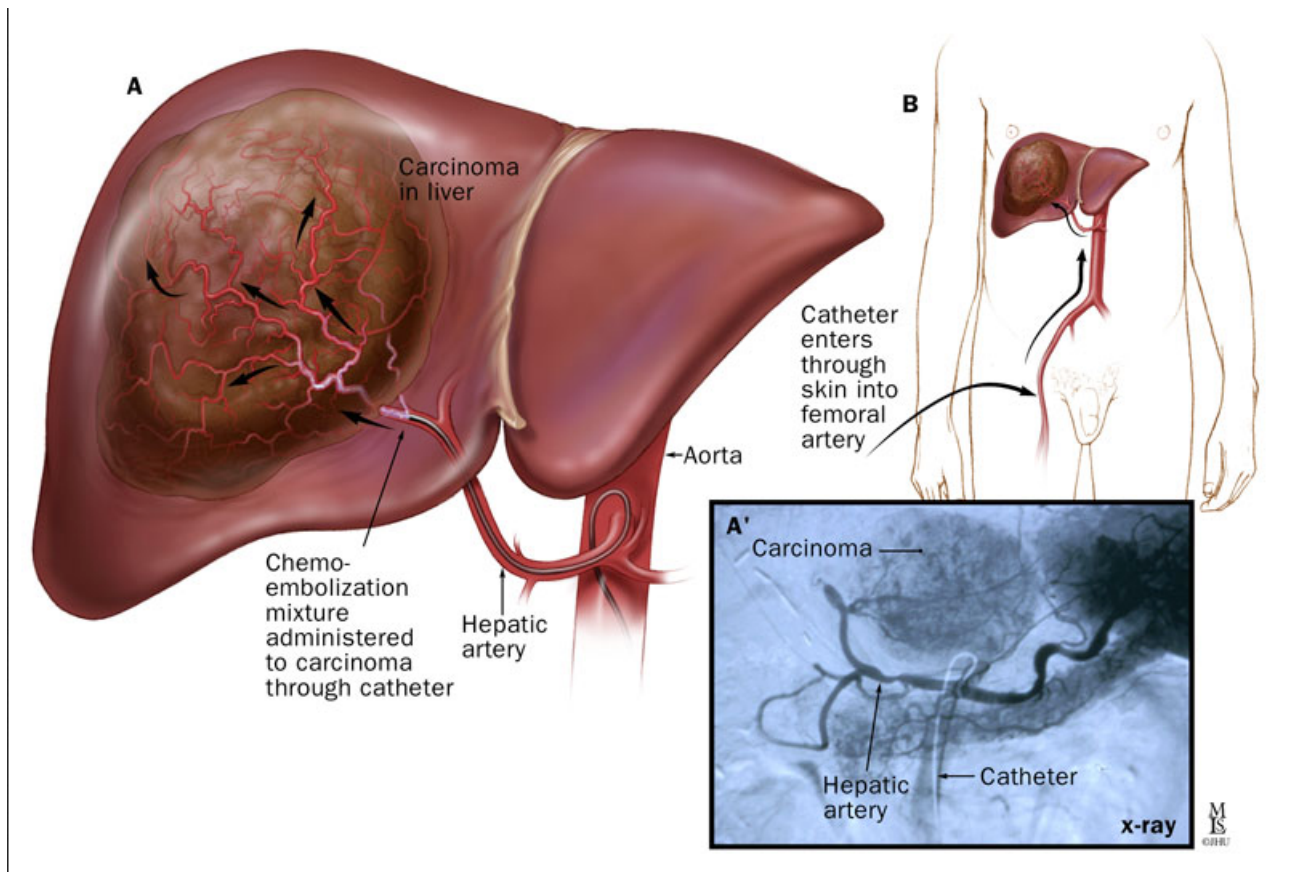
Vor jedem Eingriff erfolgt eine ausführliche Aufklärung des Patienten über mögliche Risiken und Nebenwirkungen der geplanten Intervention. Der Zugang erfolgt über die Leiste über die Arteria femoralis in Seldinger Technik.<sup>20</sup>

Die Aorta abdominalis wird mit Hilfe eines Pigtail-Katheters dargestellt. Anschließend erfolgt eine

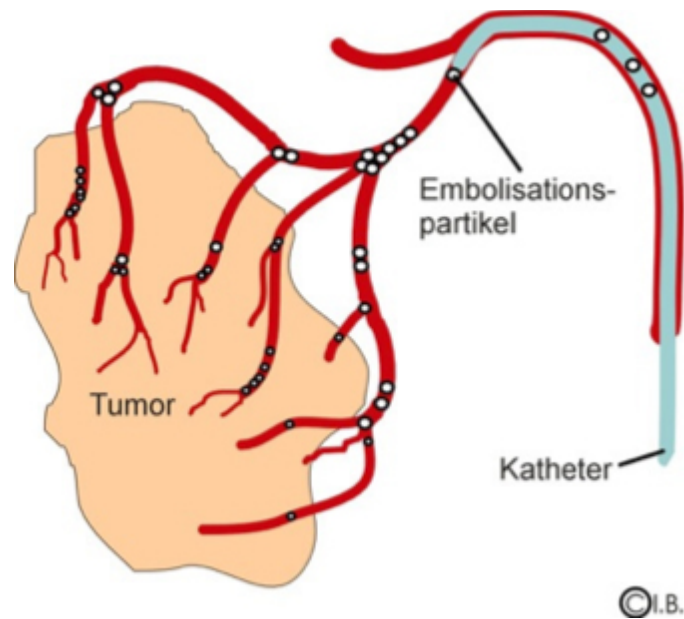
Angiografie der Arteria mesenterica superior und des Truncus coeliacus. Nun kann die Darstellung der tumorversorgenden Gefäße erfolgen. Im nächsten Schritt wird, um möglicherweise drohende Gefäßspasmen zu verhindern, ein Mikrokatheter platziert. Die Applikation der Microcarrier erfolgt in gepulster Durchleuchtung, wobei ein Reflux in die Arteria cystica, Arteria gastrica sinistra, Arteria lienalis und die Arteria gastroduodenalis verhindert werden muss (s. Abb. 1). Sobald die Applikation des Therapeutikums in unmittelbarer Nähe des Tumors erfolgt ist, wird die Injektion solange fortgesetzt, bis es zu einer Stase des arteriellen Flusses kommt (s. Abb. 2). Nun muss die Injektion gestoppt werden, da es sonst zum Reflux der Embolisationsmaterialien kommen kann.<sup>19 21</sup> Die Applikation wird im Folgenden angiografisch kontrolliert und daraufhin das sterile Material entfernt. Nach Entfernung des Katheters folgt die Blutstillung durch zehnminütige Kompression der Arteria femoralis und anschließendem Druckverband für 24 Stunden. Dem Patienten wird zur Bettruhe und reichlicher Flüssigkeitszufuhr geraten, um die renale Elimination des applizierten Kontrastmittels zu erleichtern.

Um den Behandlungserfolg evaluieren zu können, wird zwei Tage nach der Intervention eine CT-Untersuchung ohne Kontrastmittel durchgeführt. Weitere Therapien schließen sich im Abstand von vier Wochen an.<sup>11 16 22</sup>





*Abbildung 1: Darstellung der Tumorembolisation mit Hilfe der Microcarrier*



*Abbildung 2: Embolisate im Bereich der tumorversorgenden Arterie*

## 2.5: Nebenwirkungen

---

Die häufigste Nebenwirkung, die bei 30-100% der Patienten auftreten kann, ist das sogenannte Post-Embolisationssyndrom, das sich durch Fieber, Übelkeit, Erbrechen und Schmerzen äußert und bis zu einigen Tagen anhalten kann. Allerdings lassen sich diese Symptome relativ leicht mit Antipyretika- und Antiemetikagabe in den Griff bekommen, so dass letale Folgen sehr selten sind. Eine weitere relevante Nebenwirkung ist eine Verschlechterung der Leberfunktion bis hin zum Leberversagen. Die Häufigkeit von TACE - assoziierten Todesfällen liegt allerdings bei unter zwei Prozent.<sup>23</sup>

Vor dem Eingriff wird über einen intravenösen Zugang ein Opioid und gegebenenfalls ein Glukokortikoid appliziert, um möglicherweise auftretende Oberbauchschmerzen und Übelkeit während der Embolisation zu vermeiden. Außerdem erhalten die Patienten eine Antibiotikaphylaxe mit Cefuroxim. Nach Lokalanästhesie erfolgt die Punktion der Arteria femoralis in Seldinger-Technik.<sup>24</sup>

## 2.6: Einsatzgebiet der TACE

---

Mittlerweile hat sich die TACE vor allem bei der Behandlung des hepatozellulären Karzinoms<sup>25</sup> und des kolorektalen Karzinoms mit Lebermetastasen im klinischen Alltag etabliert. Allerdings ist der Einsatz einer TACE beim hepatisch metastasierten Kolonkarzinom noch kein Standardverfahren und kommt deshalb hauptsächlich bei Patienten, bei denen bereits eine Chemotherapie oder eine OP erfolglos durchgeführt wurde, zum Einsatz.<sup>26</sup>

Die Sphären selbst kommen nicht nur bei der Therapie von Tumorerkrankungen zum Einsatz, sondern finden auch in der Gynäkologie bei der Embolisation von Myomen Anwendung.<sup>27</sup>

### 2.6.1 TACE bei HCC

---

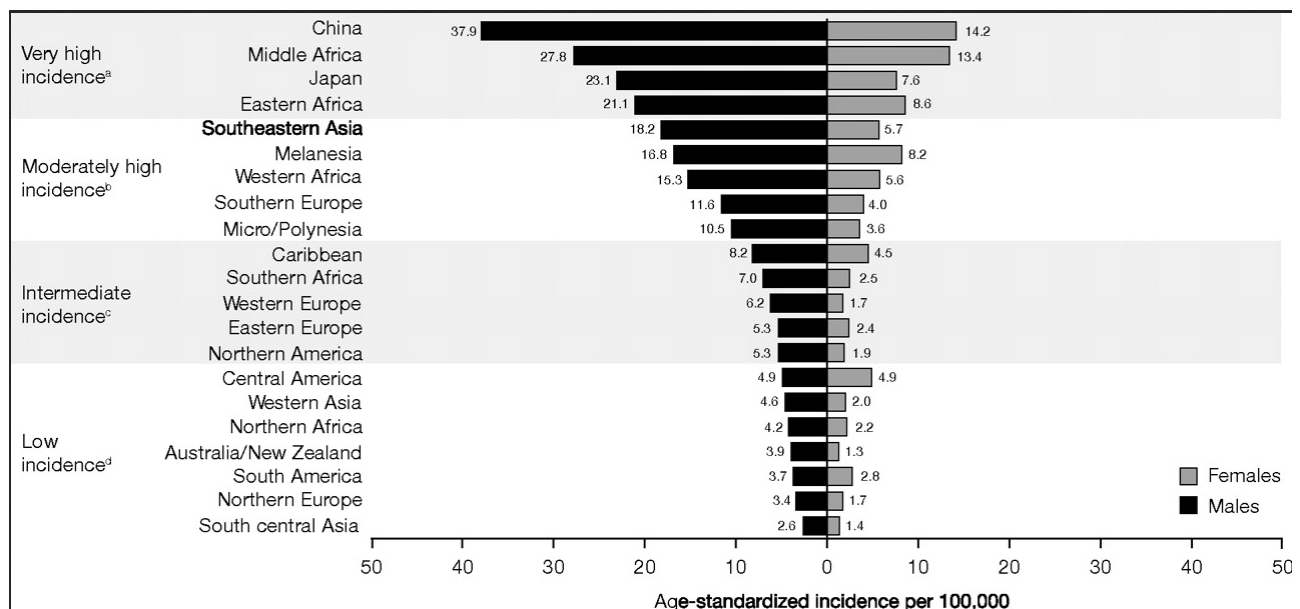
Im Jahr 2008 lag die geschätzte Zahl der weltweit neu aufgetretenen Fälle von HCC bei 746.300 Fällen.<sup>28</sup>

Männer sind zwei- bis dreimal häufiger betroffen als Frauen. Die Tendenz der Neuerkrankungen ist

weltweit steigend und vor allem in Entwicklungsländern wird über hohe Erkrankungszahlen berichtet, was vor allem an der hohen Prävalenz von Hepatitis B und C zu liegt.<sup>29</sup>

82% der Neuerkrankungen fallen auf Entwicklungsländer, davon alleine 55% in China (s. Abb. 3)

Die Grafik verdeutlicht sehr schön die fünf Länder mit den höchsten Inzidenzraten an HCC weltweit, darunter an erster Stelle China, gefolgt von Mittelfrika, Japan und Ostafrika.<sup>30</sup>



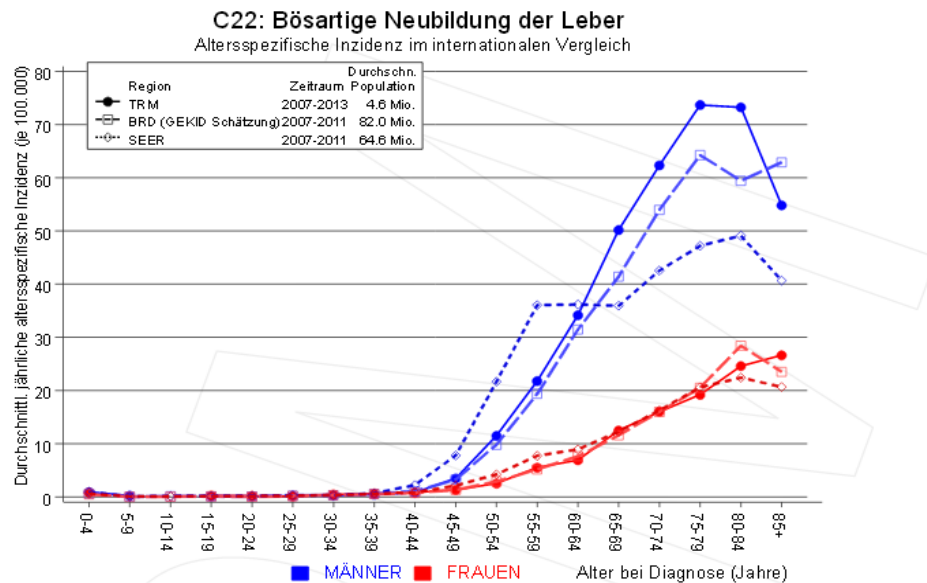
**Abbildung 3:** globale Inzidenz von HCC pro 100.000 Einwohner (2002)

Weltweit gesehen ist das HCC die fünfthäufigste Tumorerkrankung und der dritthäufigste zum Tode führende Tumor.<sup>31</sup>

Generell gibt es derzeit nur wenige therapeutische Maßnahmen, weshalb die Prognose von Patienten mit HCC immer noch schlecht ist; ungefähr 80% der Patienten sterben innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung.<sup>32</sup>

Die therapeutischen Möglichkeiten unterscheiden sich hinsichtlich der Art der Durchführung: Es werden Resektion und Lebertransplantation als kurative Verfahren von den palliativen Verfahren wie TACE und Radioembolisation unterschieden.<sup>33</sup>

In Deutschland hat sich die Zahl der Neuerkrankungen in den letzten dreißig Jahren verdoppelt. Als Gründe hierfür werden vor allem die gestiegenen Zahlen an Hepatitis-C-Infektionen von 1960 bis 1980, die höhere Anzahl an Leberzirrhosepatienten, hoher und regelmäßiger Alkoholkonsum >80g/Tag und die zunehmende Fettleibigkeit angegeben.<sup>34 35</sup>



**Abb. 7a.** Altersspezifische Inzidenz im Einzugsgebiet des Tumorregisters München im Vergleich mit der BRD (GEKID Schätzung) und SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results, USA).

Abbildung 4: Inzidenz von HCC des Tumorregisters München.

Allerdings senkt eine erfolgreiche antivirale Therapie bis hin zur kompletten Suppression der HBV-DNA bei Hepatitis B und Leberzirrhose das Risiko an HCC zu erkranken deutlich, kann jedoch nicht vollkommen ausgeschlossen werden.<sup>36 37</sup>

Auch bei Hepatitis C kann eine Elimination des Hepatitis C Virus zu einer Risikoreduktion für ein HCC führen, vor allem bei Patienten die dauerhaft HCV-RNA negativ sind.<sup>38 39</sup>

Als weiterer Grund für die Zunahme in Europa wird in der Literatur die steigende Inzidenz der nicht-alkoholischen Fettlebererkrankung (NAFLD) als Folge des metabolischen Syndroms und Diabetes mellitus angegeben.<sup>40 41 42</sup>

Diesen Patienten wird deshalb vor allem eine Gewichtsreduktion um 5-10% des Ausgangsgewichts empfohlen, woraufhin meistens eine Normalisierung der Transaminasen eintritt und so das Risiko einer weiteren Schädigung der Leberzellen deutlich gesenkt werden kann, wodurch vermutlich auch das HCC Risiko reduziert wird. Begleitend dazu ist eine Minimierung der kardiovaskulären Risikofaktoren sinnvoll.<sup>43 44</sup>

Auch die Behandlung von Diabetikern mit Metformin hat in drei Kohortenstudien ergeben, dass die HCC Inzidenz bei gesteigerter Insulinresistenz durch vermehrte Aufnahme von Glukose in den Skelettmuskel gesenkt werden kann.<sup>45</sup>

Des weiteren spielt das Erkrankungsbild der hereditären Hämochromatose eine Rolle bei der

Entstehung eine Leberzirrhose und einem daraus bedingten HCC, da durch die chronische Eisenüberladung auch die Leberzellen geschädigt werden. <sup>46</sup>

Weitere Risikofaktoren sind neben Hepatitis B,C und Hämochromatose (s.o), auch das Bud-Chiari-Syndrom, hoher Alkoholkonsum, Leberzirrhose, Exposition gegenüber Aflatoxinen oder Alpha-1-Antitrypsinmangel. Ungefähr 90% aller HCC-Fälle lassen sich auf die oben genannten Risikofaktoren zurückführen. <sup>47</sup>

In Südostasien und Ländern südlich der Sahara ist die Inzidenz der HCC Neuerkrankungen weltweit gesehen am höchsten, was vor allem durch die vielen chronischen Hepatitis B Infektionen bedingt ist. Insgesamt 80% aller Patienten kommen aus den oben genannten Gebieten.

Die Prognose der Patienten orientiert sich einerseits an der noch vorhandenen Leberfunktion und andererseits am Tumorstadium gemäß der TNM-Klassifikation. Eine Leberzirrhose gilt als Präkanzerose, was die Prognose der Patienten deutlich verschlechtert und auch in die Therapie- und Transplantationsentscheidung, die als kurative Heilung sowohl für die Zirrhose als auch für das HCC angesehen werden kann, mit eingeht. <sup>48 49</sup>

Die Barcelona-Clinic-Liver-Cancer-Staging-System Tabelle fasst all die oben genannten Kriterien zusammen, um zu einen therapeutischen Ansatz zu erstellen (s. Abb. 5).

<b>BCLC- Stadium</b>	<b>Allgemeinzustand</b>	<b>Tumorgroße</b>	<b>Leberfunktion</b>
A1	ECOG 0	1 Herd < 5cm	Keine portale Hypertension normales Bilirubin
A2	ECOG 0	1 Herd < 5cm	portale Hypertension normales Bilirubin
A3	ECOG 0	1 Herd < 5cm	portale Hypertension Bilirubin erhöht
A4	ECOG 0	< 3 Herde < 3cm	Child-Pugh A oder B
B	ECOG 0	Groß multilokulär	Child-Pugh A oder B
C	ECOG 1-2	Gefäßinvasion oder Metastasen	Child-Pugh A oder B
D	ECOG 3-4	egal	Child-Pugh C

*Abbildung 5: Tabelle mit Klassifikation BCLC- Stadien*

### Erläuterungen zur Tabelle:

Der Allgemeinzustand des Patienten wird an Hand des WHO- Performance- Status definiert:

Stadium 0: komplett aktiv, normales Leben, keine Symptome

Stadium 1: geringe Symptome, leichte körperliche Arbeit kann durchgeführt werden

Stadium 2: der Patient kann für sich selbst sorgen, ist jedoch nicht in der Lage zu arbeiten, er ist mehr als 50% des Tages außerhalb des Bettes

Stadium 3: der Patient kann nur im beschränkten Umfang für sich selbst sorgen und ist mehr als 50% des Tages im Bett

Stadium 4: der Patient ist ans Bett gefesselt und ist nicht in der Lage für sich selbst zu sorgen <sup>36</sup>

Die Leberfunktion wird mit Hilfe der Kriterien portale Hypertension, dem Bilirubinwert [ < 1,1mg/dl] sowie dem Child-Pugh-Stadium (s. Abb. 6) beschrieben. Das Child-Pugh-Stadium setzt sich wiederum aus den Werten des Bilirubins, Albumins und der Prothrombin-Zeit zusammen. Des weiteren wird das Ausmaß bzw. das Vorhandensein einer Aszites und einer hepatischen Enzephalopathie in den Score mit aufgenommen.

.

Parameter	Points assigned		
	1	2	3
Ascites	Absent	Slight	Moderate
Hepatic encephalopathy	None	Grade 1-2	Grade 3-4
Bilirubin micromol/L (mg/dL)	<34.2 (<2)	34.2-51.3 (2-3)	>51.3 (>3)
Albumin g/L (g/dL)	>35 (>3.5)	28-35 (2.8-3.5)	<28 (<2.8)
Prothrombin time			
Seconds over control	<4	4-6	>6
INR	<1.7	1.7-2.3	>2.3
CPT classification: Child A: score 5-6 (well compensated); Child B: score 7-9 (significant functional compromise); Child C: score 10-15 (decompensated)			

*Abbildung 6: Darstellung des Child Pugh Scores*

Das folgende Schaubild soll die grobe Vorgehensweise und Therapieentscheidung bei einem HCC veranschaulichen:

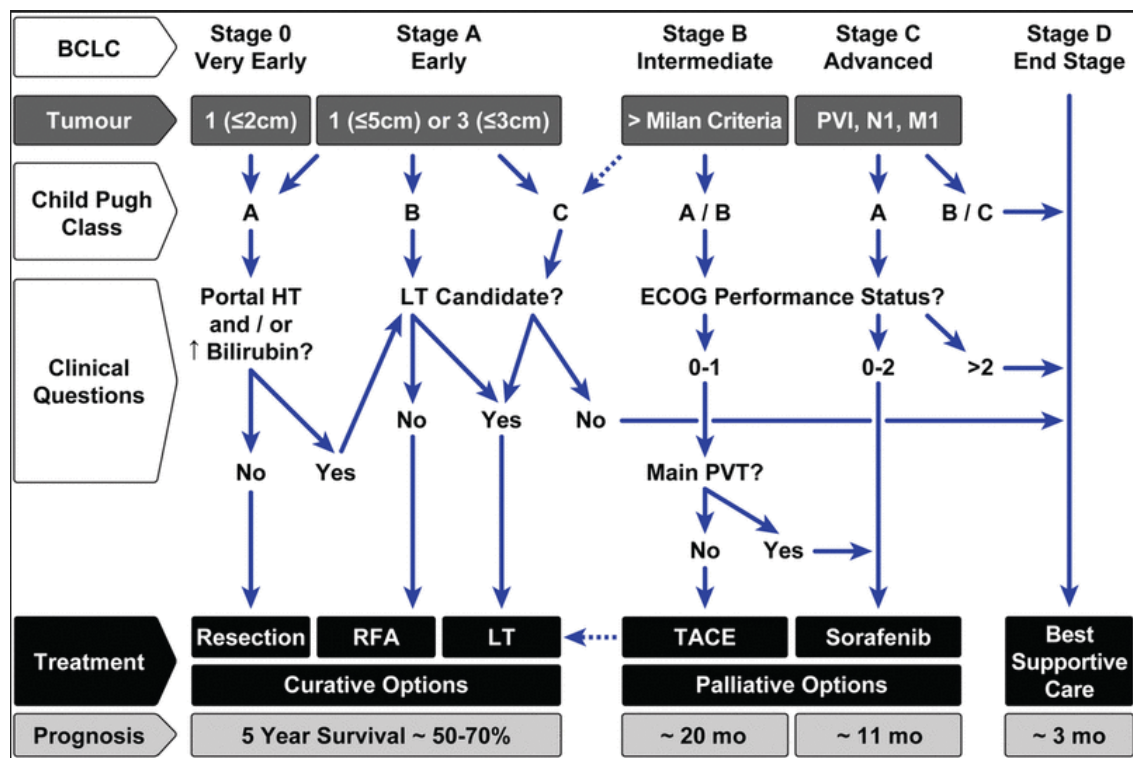


Abbildung 7: Algorithmus bei HCC

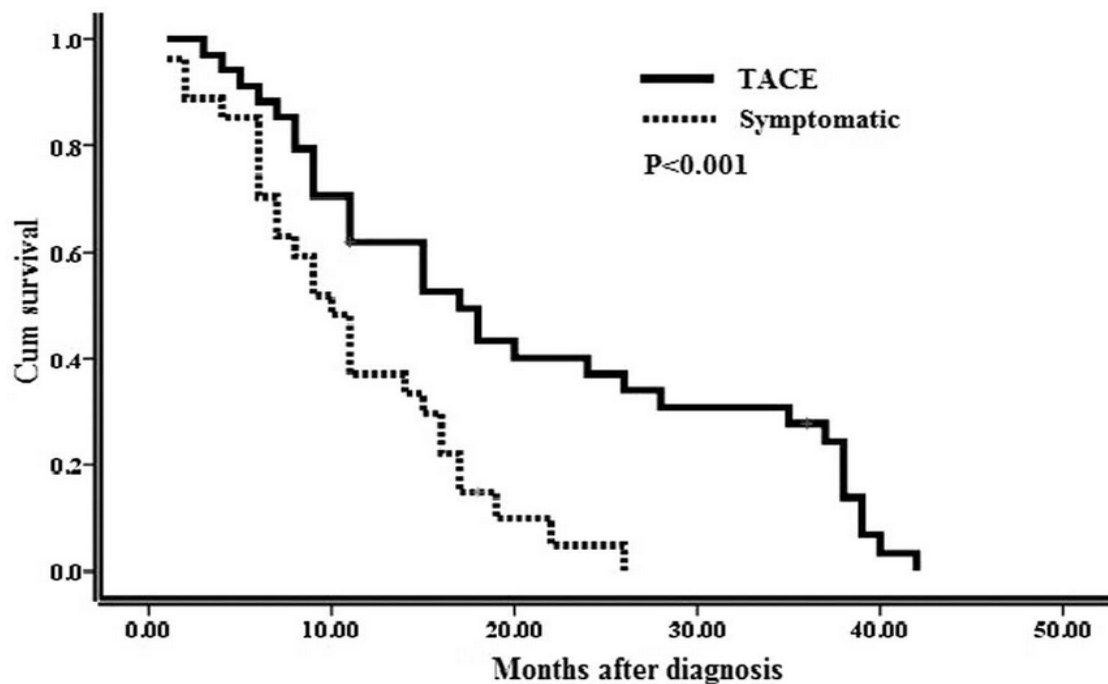
Bei potentiell transplantierbaren Patienten ist die TACE das derzeit am häufigsten eingesetzte neo-adjuvante Therapieverfahren.<sup>50 51 52</sup>

Die TACE kommt vor allem als nicht-kuratives, nicht-chirurgisches Therapieverfahren bei Patienten mit großem, multifokalen HCC zum Einsatz, wodurch das Tumorwachstum verlangsamt werden kann.<sup>53</sup>

Majno et al können in einer retrospektiven Studie von einer Downstagingrate bis zu 62% sprechen, was die Resektabilität des Tumors deutlich verbesserte. Durch die in Folge der TACE erzielten inkompletten Nekrose der Tumorzellen konnte die Zeit des beschwerdefreien Gesamtüberlebens deutlich verlängert werden.<sup>54</sup>

Auch die Autoren Peng Wang et al berichten in ihrem 2014 erschienen Artikel „Association of transarterial chemoembolization with survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma“ von ähnlichen Beobachtungen. Sie untersuchten insgesamt 129 Patienten mit

mittelgradigem oder fortgeschrittenem HCC, von denen 102 eine TACE mit Doxorubicin oder Cisplatin erhielten und 27 rein symptomatisch behandelt wurden. Der Endpunkt des Follow-up war das Überleben. Die 1-, 2-, 3- Jahresüberlebensraten lagen bei der TACE- Gruppe bei 61,8%, 34%, 24,3% und bei der Vergleichsgruppe bei 51,9%, 9,9%, 0% (s. Abb. 8). Somit konnten die Autoren für  $p < 0.001$  einen statistisch signifikanten Unterschied bezogen auf das Gesamtüberleben der beiden Gruppen beweisen.<sup>55</sup>



*Abbildung 8: vergleichende Darstellung des Gesamtüberlebens bei der Interventionsgruppe mit TACE- Behandlung vs. symptomatischer Therapie*

#### 2.6.2: TACE bei hepatisch metastasiertem Kolonkarzinom

Das kolorektale Karzinom ist bei Frauen nach Brustkrebs die zweithäufigste bösartige Tumorerkrankung und bei den Männern die dritthäufigste nach Prostata- und Lungenkarzinom.<sup>56</sup> Das Tumorregister München weist für den Zeitraum von 1998-2013 28.439 Neuerkrankungen auf, von denen 55,5% der Patienten verstarben. Insgesamt 51,6% der Patienten waren männlich.<sup>57</sup> Jährlich erkranken ca. 1,2 Millionen Menschen weltweit neu an Darmkrebs. Es handelt sich um eine sehr heterogene Erkrankung, deren Ätiologie und Pathogenese sowohl auf genetischen Mutationen

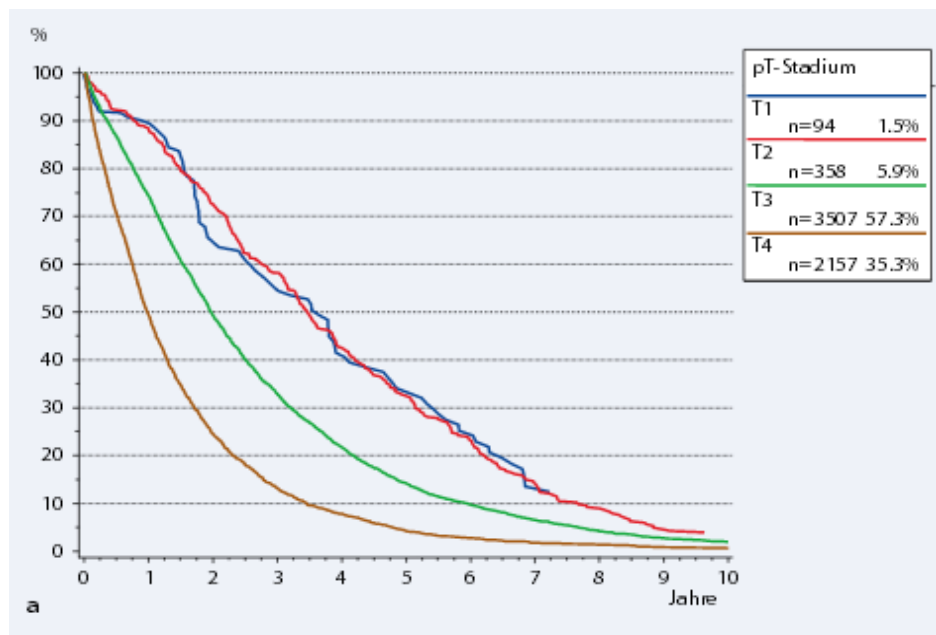


als auch auf Umwelteinflüssen beruht.<sup>58</sup>

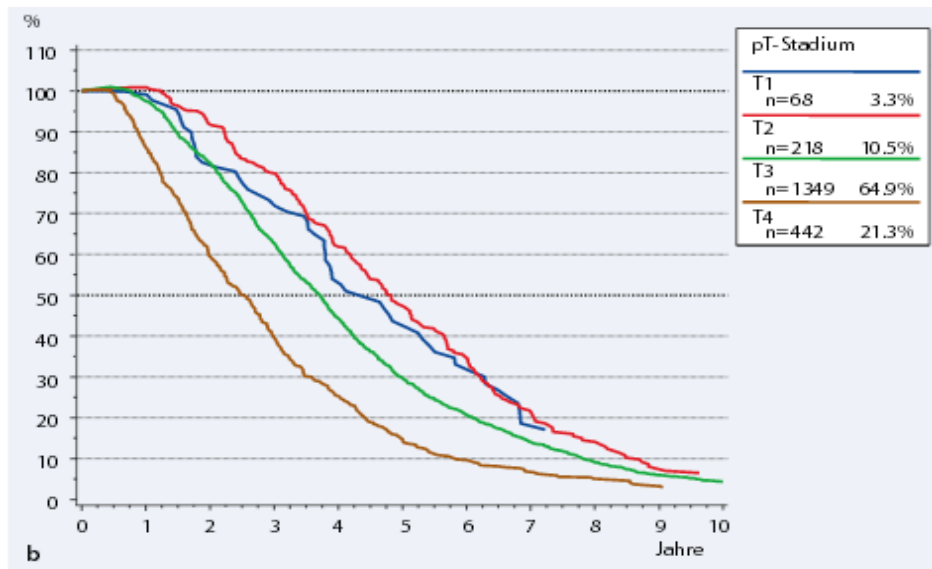
Als Therapiestandard haben sich mittlerweile zwei Drippel-Chemotherapieschemata bewährt: Die Kombination als 5-Fluoruracil, Leucovorin und Oxaliplatin (FOLFOX) sowie die Kombination aus 5-Fluoruracil, Leucovorin, Oxaliplatin und Irinotecan (FOLFOXIRI).<sup>59</sup>

Bei 25% der Patienten liegen zum Zeitpunkt der Diagnose bereits Fernmetastasen vor, weshalb meist eine interdisziplinäre Tumorkonferenz einberufen wird, um dem Patienten das beste Therapieverfahren zu ermöglichen. Dort wird das weitere Vorgehen und die Therapieplanung diskutiert, vor allem aber, ob die Metastasen in kurativer Absicht reseziert werden sollen, oder ob ein palliatives Therapiekonzept angestrebt werden soll. Bei ungefähr 60% der Patienten entwickeln sich im weiteren Erkrankungsverlauf Metastasen.<sup>60</sup>

Am häufigsten sind Metastasen der regionären Lymphknoten gefolgt von Lebermetastasen. 40% der Patienten entwickeln im Krankheitsverlauf Lebermetastasen, was mit einer ungünstigen Prognose einhergeht.<sup>61</sup> Da die Lebenserwartung mit Beginn einer Metastasierung drastisch sinkt (s. Abb. 9) hat sich mittlerweile die DEB-TACE als palliative Behandlungsmethode in der klinischen Radiologie etabliert.



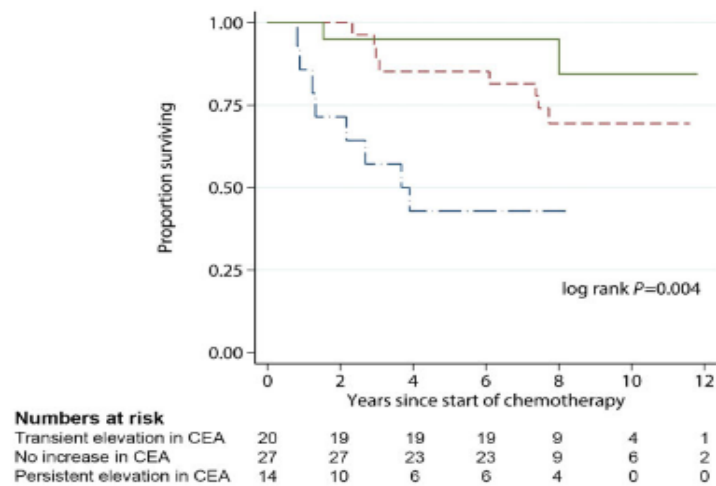
*Abbildung 9: Verteilung der Überlebenszeiten ab Diagnose des Primärtumors für alle metastasierten und verstorbenen Patienten mit primären M1-Befunden in Abhängigkeit von der pT-Kategorie (n=6116 bzw. n=2077)*



*Abbildung 10: Verteilung der Überlebenszeiten ab Diagnose des Primärtumors für alle metastasierten und verstorbenen Patienten ohne primäre M1-Befunde in Abhängigkeit von der pT-Kategorie (n=6116 bzw. N=2077)*

Zur Beurteilung der Lebermetastasen findet als erstes eine Sonografie des Abdomens statt, an die sich dann ein CT- Abdomen oder MRT-Abdomen anschließt, um die Resektabilität der Metastasen beurteilen zu können.<sup>62</sup>

Zur diagnostischen Abklärung gehört meistens auch die Bestimmung des Tumormarkers CEA, der bei 30% der Patienten erhöht ist und als Verlaufsparmeter dient. Allerdings schließt ein normwertiges CEA eine Tumorerkrankung im Frühstadium nicht aus. Auf Grund der schlechten Sensitivität muss ein erhöhtes CEA nicht unbedingt auf einen Tumor hinweisen, da es auch bei verschiedenen anderen Lebererkrankungen, bei Entzündungsreaktionen und Rauchen erhöht sein kann. Nichts desto trotz korrelieren hohe CEA-Werte oft mit einem fortgeschrittenen Tumorstadium. Es ist momentan noch nicht ganz klar, ob die prä- und postoperativen CEA- Werte mit der Prognose und dem relativem Überleben der Patienten einhergehen, oder ob es sich um einen unabhängigen Prognosemarker handelt. Für die Beurteilung der Ansprechrate bei Patienten mit metastasiertem kolorektalem Karzinom nach Chemotherapie oder (Teil-)resektion von Metastasen hat sich das CEA mittlerweile bewährt (s. Abb. 11). Es konnte auch gezeigt werden, dass ein kontinuierlich steigendes CEA mit einem höheren Risiko und einer höheren Sterberate verbunden ist.<sup>63</sup>



**Figure 3** Comparison of overall survival in the three CEA groups. —, transient elevation in CEA; ---, no increase in CEA; — · —, persistent elevation in CEA.

*Abbildung 11: graphische Darstellung und Vergleich des Gesamtüberlebens in drei CEA-Gruppen.*

Ziel der Therapie der Lebermetastasen sollte immer eine komplette Resektion sein, da dies die einzige Heilungschance darstellt. Folgende Kriterien müssen hierfür erfüllt sein:

1. nicht resektabel, extrahepatische Tumormanifestation ausgeschlossen
2. weniger als 70% des Leberparenchyms befallen
3. weniger als drei Lebervenen und weniger als sieben Segmente betroffen
4. keine Leberinsuffizienz oder Child-B oder Child-C Zirrhose
5. keine schweren Begleiterkrankungen

Das 5-Jahres Überleben nach Resektion von Lebermetastasen bei kolorektalem Karzinom liegt bei 25-40%.<sup>64</sup>

Sollte eine Operation nicht möglich sein, erhalten die Patienten primär eine neoadjuvante Chemotherapie, um durch das Downstaging des Tumors eventuell sekundär eine Resektion zu ermöglichen.

Für Patienten, die dieses Kriterium nicht erfüllen, weil die Metastasen entweder nicht resektabel

sind oder die Patienten zuvor bereits eine Leberresektion erhalten haben, hat sich die Radiofrequenzablation etabliert.<sup>65</sup>

Des weiteren steht im Rahmen klinischer Studien für Patienten, die systemisch austherapiert sind und nur begrenzt extrahepatische Metastasen haben, die Radioembolisation (SIRT) zur Verfügung.<sup>66</sup>

Neuere Studien beschreiben bereits einen statistisch signifikanten Überlebensvorteil und eine höhere Ansprechrate nach 2-, 4- und 6 Monaten für die Behandlung mit FOLFOX- DEBIRI™ in Kombination mit einer systemischen Chemotherapie nach dem FOLFOX-Schema zusammen mit dem Angiogenesehemmer Bevacizumab im Vergleich zu Patienten, die nur eine systemische Chemotherapie mit FOLFOX und Bevacizumab erhielten. Primärer Endpunkt der Studie war die Ansprechrate während das progressionsfreie Überleben, das Auftreten von schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen und die sekundäre Resektabilität als sekundäre Endpunkte gewertet wurden.

Das progressionsfreie Überleben war in beiden Patientengruppen gleich. Ziel der Behandlung ist es, durch die Kombinationsbehandlung ein „downsizing“ der Metastasen und somit eine sekundäre Resektabilität zu erreichen. Nach 2 Monaten zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Ansprechrate (78% vs. 54%;  $p=0,02$ ) in der FOLFOX-DEBIRI- Gruppe vs. der FOLFOX-Gruppe. Dieses Ergebnis konnte nach 6 Monaten bestätigt werden (76% vs. 60%;  $p=0,05$ ). Auch das „downsizing“, um eine Resektabilität zu ermöglichen, war in der FOLFOX-DEBIRI- Gruppe signifikant höher (35% vs. 16%,  $p=0,05$ ). Ebenso lag das mittlere progressionsfreie Überleben mit 15,3 Monaten in der FOLFOX-DEBIRI- Gruppe deutlich höher als in der Vergleichsgruppe (7,6 Monate).

Da die Studie leider nur insgesamt 60 Patienten eingeschlossen hatte, kann man das Ergebnis als Anhaltspunkt für weitere Patientengruppen sehen, das Ergebnis kann aber nicht generalisiert werden. Allerdings hat sich bei hepatisch metastasiertem Kolonkarzinom die Behandlung mittels DEB-TACE noch nicht im klinischen Alltag etablieren können, weshalb zu diesem Thema noch weitere Studien folgen müssen.<sup>67</sup>



*Abbildung 12: DEB- TACE bei der Behandlung von hepatisch metastasiertem kolorektalem Karzinom*

## 2.7: Vorteile der drug-eluting bead- TACE (DEB-TACE) mit Vergleich zur konventionellen TACE (cTACE)

Da Tumorerkrankungen vorwiegend ältere Patienten betreffen, deren Allgemeinzustand oft schlechter ist als bei jüngeren Patienten, muss der Faktor Alter und damit der Allgemeinzustand als ausschlaggebender Punkt für die OP-Planung mit berücksichtigt werden. Wie bereits oben beschrieben stehen für die Behandlung des HCC sowie des hepatisch metastasierten Kolonkarzinoms eine Vielzahl von hochaggressiven und damit auch für den Patienten sehr belastenden Therapieformen zur Auswahl. In dieser Hinsicht bietet der Einsatz einer TACE-Behandlung einen große Vorteil:

In mehreren Studien konnte ein günstiges Wirkungs-, /Nebenwirkungsprofil erarbeitet werden. Für

den Patienten ist dies von großer Bedeutung, da er sich schneller vom Eingriff erholt und meist relativ schnell entlassen werden kann. Durch die geringeren Nebenwirkungen kann die Zeit des Krankenhausaufenthaltes verkürzt werden und die Patienten können früher wieder in ihren Alltag zurückkehren. Potentiell können auch bei diesem Eingriff Nebenwirkungen auftreten, wie zum Beispiel das Post-Embolisationssyndrom, Müdigkeit und Depression, weshalb die kurze Krankenhausverweildauer auch nur für Patienten ohne jegliche Komplikationen gilt.<sup>68</sup>

Im Bereich des Tumors oder der Metastasen werden auf Grund der Applikationsform hohe lokoregionäre Zytostatikakonzentrationen bei niedrigen systemischen Nebenwirkungen erreicht. Dies führt wiederum zu einer hohen Nekroserate des Tumor- oder Metastasengewebes.

Die Effekte der DEB-TACE potenzieren sich im Vergleich zur cTACE hinsichtlich der Effekte auf das Tumorgewebe: Der zytotoxische Effekt auf das Tumorgewebe in hoher Konzentration wird vor allem durch die Applikationsform über die Arteria hepatica direkt in der Leber erreicht, wodurch ohne große systemische Nebenwirkungen große tumorderstruktive Effekte erzielt werden können. Auch die kontinuierliche und langsame Abgabe des Chemotherapeutikums aus den Microcarriern stellt einen großen Vorteil hinsichtlich der Ischämie und Tumornekrose dar. So wird gewährleistet, dass stets eine ausreichend hohe Konzentration des Chemotherapeutikums das Tumorgewebe umgibt (s. Abb. 14). Peripher der Embolisation kommt es durch die Okklusion der tumorversorgenden Leberarterie durch die Microcarrier zur Ischämie und somit zur Tumornekrose. Langfristiges Ziel ist die Devaskularisation des Tumors<sup>69 70</sup>

Die DEB-TACE stellt einen großen Fortschritt in der Entwicklung der klinischen Radiologie dar. Im Januar 2014 veröffentlichten Dr. Kaijun Huang et al. einen Artikel über den Vergleich von DEB-TACE und konventioneller TACE.

Es handelt sich um eine Metaanalyse, in der insgesamt sieben ab dem Jahre 2000 veröffentlichte Studien betrachtet wurden. Im Vergleich zur cTACE zeigte sich ein deutlich besseres 1- und 2-Jahresüberleben der Patienten, die mittels DEB-TACE behandelt wurden (Odds Ratio: 0,64,  $p=0,007$  bzw. 0,61,  $p=0,0003$ ). Des weiteren zeigte sich ein signifikant besseres Ansprechen des Tumors auf die Therapie mittels DEB-TACE (OR=1,92;  $p=0,0004$ ), bei einer relativen Risikodifferenz von 0,15 ( $p=0,0003$ ). Auch das günstige Wirkungs-/ Nebenwirkungsprofil konnte in dieser Studie bestätigt werden.<sup>71</sup>

Prof. Dr. Philippe L. Pereira, Direktor der Klinik für Radiologie, Minimal-Invasive Therapien und Nuklearmedizin an den SLK-Kliniken Heilbronn äußert sich zur 2014 erschienen Studie folgendermaßen:

„Die DEB-TACE ist im Vergleich zur cTACE nicht nur besser steuerbar, durch die retardierte

Abgabe des Zytostatikums aus den Mikropartikeln hält deren Wirkung im Tumorgefäßbett auch länger an. Diese Drug Eluting Beads können aufgrund ihrer geringen Größe von minimal 0,04 mm sehr tief in die Kapillaren des Tumors und sogar transsinusoidal eindringen und den Tumor dadurch komplett von der Blutversorgung abschneiden“, so Pereira.<sup>72</sup>

Nichts desto trotz konnte bisher kein signifikanter Vorteil für den Patienten hinsichtlich des Gesamtüberlebens gezeigt werden. Viele Studien fanden retrospektiv statt und konnten nicht die gewünschten Ergebnisse hinsichtlich längerer Überlebenszeiten für die Patienten zeigen. In Studien, in denen ein signifikanter Überlebensvorteil für Patienten mit DEB-TACE-Behandlung gezeigt werden konnte, wurde jeweils nur ein sehr kleines und spezifisches Patientenkollektiv in die Studie eingeschlossen.<sup>73</sup>

Seit 2006 wird die cTACE zunehmend von der DEB-TACE abgelöst und hat sich mittlerweile in fast allen großen Tumorzentren als Behandlungsmethode etabliert.<sup>74</sup>

Bei der cTACE erfolgt die Applikation des Chemotherapeutikums ebenfalls über die Arteria femoralis, allerdings mit dem Unterschied, das hierfür keine Microcarrier verwendet werden, sondern das Zytostatikum, das sich in einem lipidartigen Röntgenkontrastmittel als Trägersubstanz befindet, direkt über den Katheter bis zur Leber gespült wird. Somit sind zwar die systemischen Nebenwirkungen ebenfalls geringer als bei einer klassischen Chemotherapie, können aber nicht vollständig vermieden werden und treten zudem häufiger auf als bei der Therapie mittels DEB-TACE. Die Mischung aus Chemotherapeutikum und Röntgenkontrastmittel ist in seiner Form relativ instabil, weshalb die Interventionsergebnisse sehr vom Operateur abhängig sind. Des weiteren kommt es nicht zum permanenten gefäßokkludierenden Effekt durch die Microcarrier und es kann keine kontinuierliche Abgabe des Chemotherapeutikums erfolgen.

Bislang wurden in mehreren vergleichenden Studien festgestellt, dass die systemische Doxorubicin Kurve bei der Behandlung mittels DEB-TACE signifikant geringer war als bei der cTACE ( $p=0,00002$ ) (s. Abb. 13). Insgesamt kam es kaum zum Auftreten von unerwünschten Nebenwirkungen bei der DEB-TACE Gruppe, selbst bei einer Spitzenkonzentration des Doxorubicin von 150mg (Poon et al). Nur bei zwei Patienten konnte das Auftreten eines Leberabszesses beobachtet werden. Das Auftreten von Doxorubicin-assoziierten Nebenwirkungen, wie zum Beispiel Alopezie, Dyspnoe, Lungenembolie oder Knochenmarkstoxizität konnte in keiner der beiden Gruppen beobachtet werden. Auch in weiteren Studien konnte ein signifikantes Ergebnis bezüglich der Ansprechraten in der DEB-TACE Gruppe beobachtet werden ( $p=0,04$ ). Ein klarer Überlebensvorteil bezogen auf die 3-Jahres-Überlebensrate konnte leider nicht beobachtet werden ( $p=0,11$ ).<sup>71</sup>

Insgesamt kann das Überleben von initial 16 Monaten bei unbehandeltem HCC auf 20 Monate mit Hilfe der TACE bei geringen Nebenwirkungen erhöht werden.<sup>75</sup>

Nichts desto trotz scheint momentan die Leberteilresektion immer noch das beste, wenngleich auch das invasivste Verfahren zu sein, um das mittlere Überleben der Patienten zu erhöhen (41 Monate bei Resektion vs. 14 Monate nach TACE).<sup>76</sup>

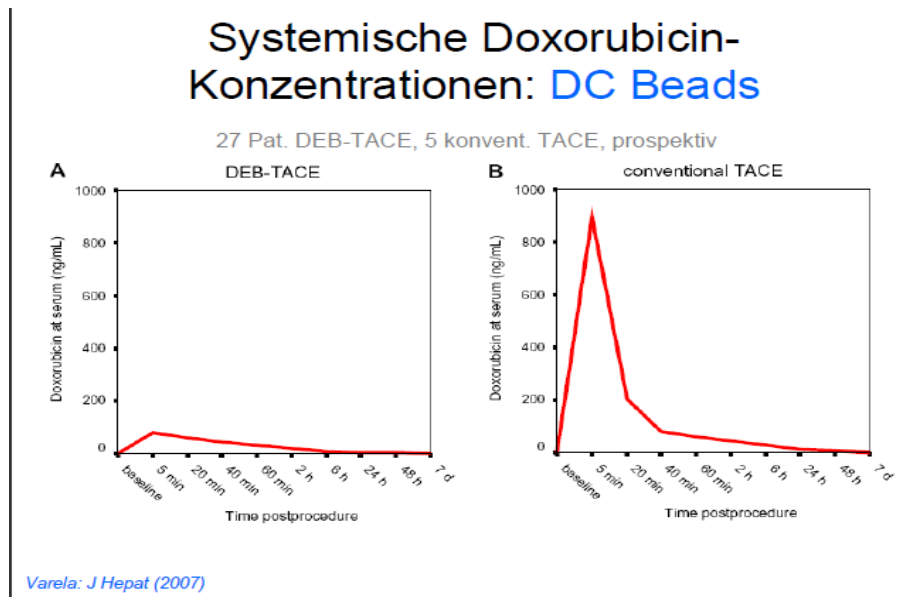


Abbildung 13: Systemische Doxorubicin-Konzentrationen nach Behandlung mit DEB-TACE und cTACE



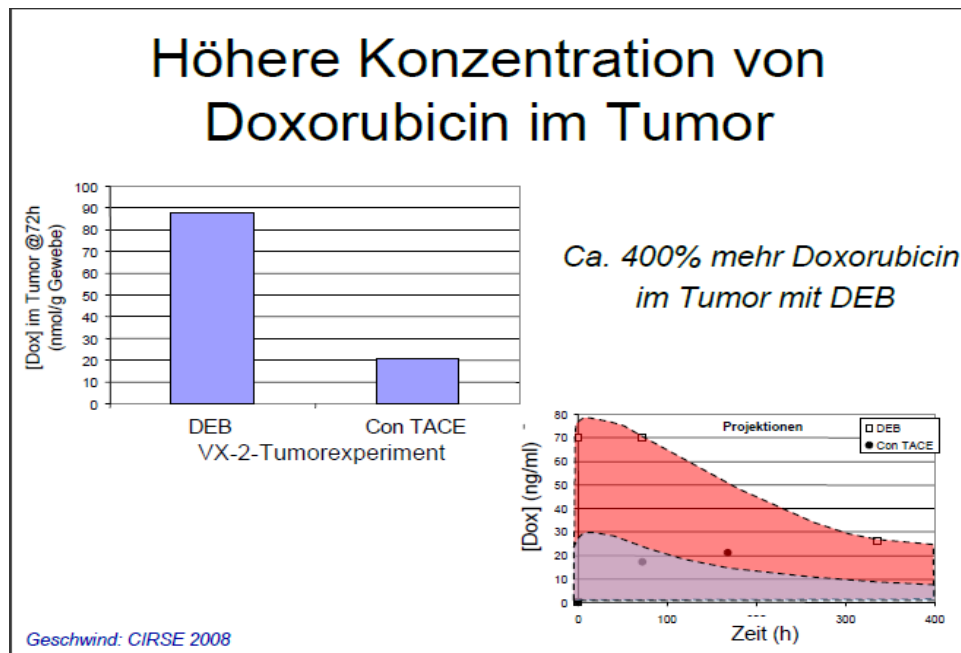


Abbildung 14: höhere Konzentration von Doxorubicin im Tumor nach DEB-TACE vs. cTACE

Lammer et al publizierten 2010 ihre internationale, multizentrische, prospektive, randomisierte, einfach-verblindete, Phase II Studie „*Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study.*“, in der sie die konventionelle TACE (cTACE) und die DEB-TACE mit DCBeads hinsichtlich der Effektivität und Sicherheit in der Therapie bei Patienten mit Leberzirrhose Child-Pugh A/B und HCC gegenüberstellten und verglichen. Eingeschlossen wurden nur Patienten älter als 18 Jahre und mit einem ECOG 1 oder 0, für die eine primäre Resektion nicht in Frage kam. Außerdem durfte keine Infiltration der Pfortader oder eine extrahepatische Manifestation vorliegen. Auch eine bereits stattgefundene Chemoembolisierung, Radiotherapie oder Chemotherapie wurde als Ausschlusskriterium gewertet.

Als Endpunkt der Effektivität wurde das Tumoransprechen im MRT nach sechs Monaten festgelegt. Die Sicherheit wurde hinsichtlich der auftretenden SAEs (serious adverse events) innerhalb 30 Tage nach der Behandlung beurteilt. Insgesamt erhielten die Patienten drei Behandlungen im Abstand von zwei Monaten.

Die DC-Bead-Gruppe (n=102) erhielt pro Behandlung jeweils eine 4ml Injektion der DC-Beads geladen mit 150 mg Doxorubicin, während die cTACE-Gruppe (n=110) pro Intervention 50-75 mg/m<sup>2</sup> erhielt, bis zu einem Maximum von 150 mg bezogen auf die Körperoberfläche.

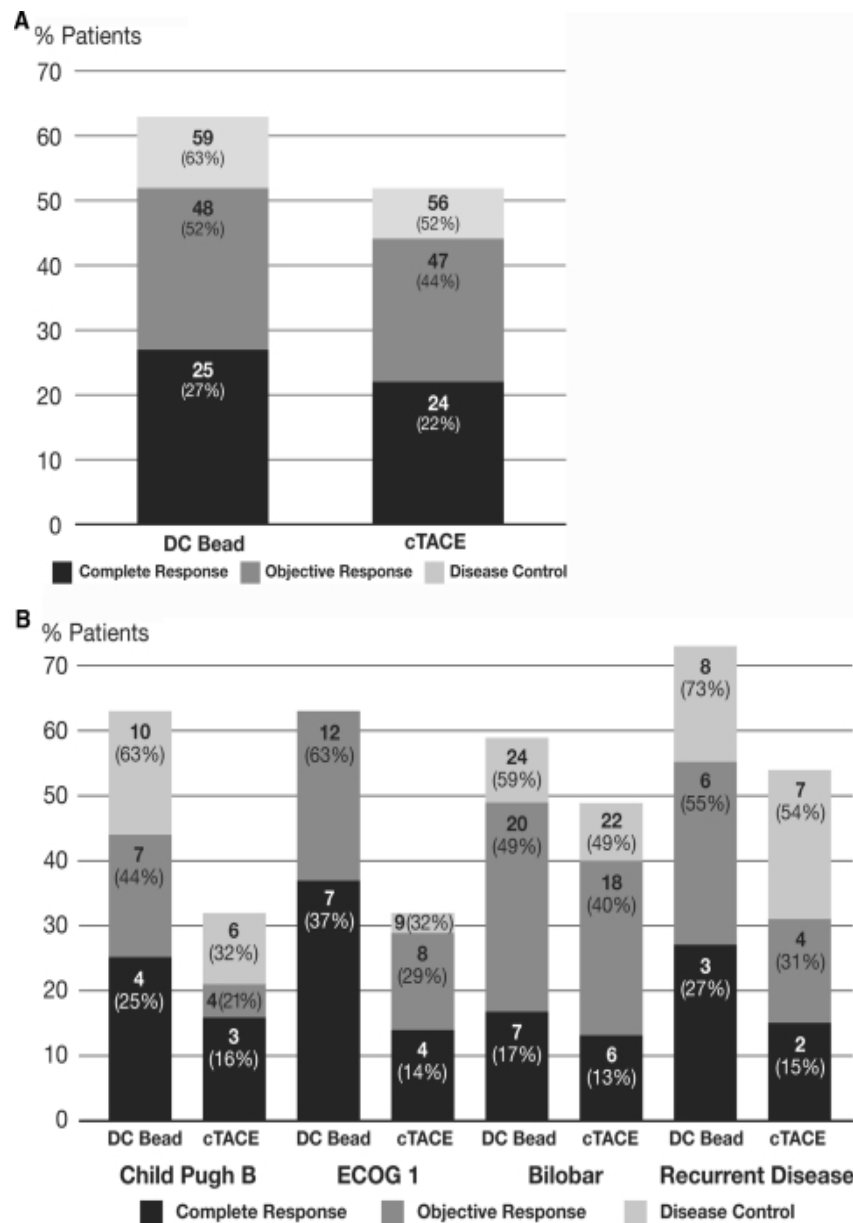
Als Ergebnis stellte sich ein nicht signifikanter Unterschied zwischen den beiden Vergleichsgruppen heraus:

Bei der DC-Bead Gruppe kam es bei 26,9% zu einem kompletten Ansprechen, während es bei der cTACE-Gruppe nur 22,2% waren. Teilweises Ansprechen wurde zu 24,7% vs. 21,3% erreicht und bei 11,8% bzw. 8,3% blieb das Krankheitsbild unverändert. Retrospektiv konnte eine Tumorprogression in 32,3% bzw. 40,7% beobachtet werden. Hinsichtlich der Sicherheit konnten keine signifikanten Unterschiede in den beiden Gruppen nachgewiesen werden. Einziger Unterschied in der Inzidenz mit >10% war das Auftreten einer Alopecie, das in der DEB-TACE-Gruppe bei 2,2% und in der cTACE bei 19,4% lag. Systemische Nebenwirkungen von Doxorubicin, wie zum Beispiel Alopecie, Knochenmarksdepression und Mukositis traten nur bei 11,8% der Patienten in der DEB-TACE-Gruppe vs. 25,9% in der cTACE-Gruppe auf. Der postinterventionelle Anstieg der Leberenzyme ALT und AST war in der DC-Bead Gruppe signifikant geringer: Der durchschnittliche maximale ALT-Anstieg bzw. AST-Anstieg war um 50% bzw. 40% geringer als in der cTACE-Gruppe.<sup>77</sup>

Auch Varela et al. fanden in ihren Studien heraus, dass die maximalen systemischen Doxorubicinkonzentrationen bei der DEB-TACE signifikant geringer waren, als bei der cTACE-Gruppe ( $78.97 \pm 38.3 \text{ ng/ml}$  vs.  $2341.5 \pm 3951.9 \text{ ng/ml}$ ).

Diese Tatsachen deuten auf ein schonenderes Therapieverfahren mittels DEB-TACE, vor allem hinsichtlich der oben genannten Nebenwirkungen hin. In folgenden Punkten ist die DEB-TACE der cTACE klar überlegen: Die Patientenverträglichkeit ist deutlich besser, was mit einem kürzeren Krankenhausaufenthalt (7,8 Tage vs. 11,4 Tage bei cTACE) einhergeht und die toxischen Wirkungen auf das gesunde Leberparenchym sind geringer. Auch hinsichtlich des Postembolisationssyndroms ist die DEB-TACE mit einer Häufigkeit von 7% vs. 16% deutlich überlegen.<sup>78</sup>

Allerdings konnte in dieser Studie von Arabi M. Et al kein Überlebensvorteil in der Zweijahresüberlebensrate festgestellt werden. Vor allem in fortgeschrittenen Tumorstadien und bei multifokalem HCC deutet sich eine bessere Verträglichkeit der DEB-TACE Therapie an, was eine mehrmalige Behandlung und somit eine höhere kumulative Dosis des Chemotherapeutikums im Bereich des Tumors ermöglicht.<sup>79 80</sup>



**Abbildung 15:** **a** Komplettes Ansprechen, objektives Ansprechen und Krankheitskontrollrate (Kumulativrate [%] der Patienten) von allen Patienten nach 6 Monaten. **b** Komplettes Ansprechen, objektives Ansprechen und Krankheitskontrollrate (Kumulativrate [%] der Patienten), klassifiziert an Hand von Child Pugh Score, ECOG Score, beide Leberlappen durch Karzinom befallen, Rezidiv HCC) für fortgeschrittenes Krankheitsbild.

### **3. Experimenteller Teil**

---

#### **3.1: Fragestellung und Zielsetzung**

---

In vielerlei Hinsicht erfreut sich die transarterielle Chemoembolisation einer wachsenden Zahl von Anwendern in der Klinik auf Grund des günstigen Wirkungs-Nebenwirkungsprofils und der Möglichkeit einer minimalinvasiven und somit patientenschonenden Anwendung. Die Vor- und Nachteile dieses Verfahrens wurden bereits im vorangestellten Abschnitt erörtert.

Im Zeitalter der modernen Hightech-Medizin unterliegt auch dieses Verfahren noch einem großen Wandel und der Möglichkeit einer vielfältigen Verbesserung und Weiterentwicklung, was sowohl die Embolisationsmaterialien selbst, als auch die Art des verwendeten Chemotherapeutikums betrifft.

In meiner Arbeit sollen vor allem die Embolise HepaSpheres® (30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1; BioSphere Medical) hinsichtlich ihrer Kinetik, den physikalischen Eigenschaften und ihrer mechanischen Belastbarkeit untersucht werden und dann mit den Microcarriern DCBeads® (300-500µm, REF: DC2V305; Terumo) verglichen werden.

Die Embolise werden in verschiedenen Versuchen bezüglich ihrer Fähigkeit verschiedene Chemotherapeutika und andere, für medizinische Interventionen interessante therapeutische Substanzen, aufzunehmen und vor allem wieder abzugeben, untersucht. Hierfür wird ein künstlich geschaffener Körperkreislauf unter möglichst physiologischen Versuchsbedingungen imitiert und die zeitabhängige Elution der Chemotherapeutika mittels Extinktionsmessung über einen bestimmten Zeitraum bestimmt.

Im Einzelnen wurden folgende Experimente durchgeführt und ausgewertet:

- Beladung der HepaSpheres mit blauer Tinte
- Auswaschversuch der Tinte mit Natriumchlorid, Leitungswasser und destilliertem Wasser
- Beladung der HepaSpheres mit Methylenblau
- Beladung der Hepaspheres und DC Beads mit Epirubicin unter Erstellung einer Zeit-Dosis Kurve bei 37°
- Auswaschversuch von Epirubicin aus den Hepaspheres mit Leitungswasser
- mechanische Belastung der HepaSpheres als Simulationsversuch bei der Passage durch den

#### Katheter

- Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron
- Beladung der HepaSpheres mit Rifampicin
- Beladung der HepaSpheres mit Ferritin
- Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12

Als Voraussetzung galt es nur farbige Substanzen zu verwenden, da ansonsten die Auswertung mittels Mikroskopkamera über das Photoprogramm „FuturWinJoe“ nicht möglich gewesen wäre. Deshalb lässt sich keine Aussage über eventuell weitere zu verwendende Substanzen machen.

### 3.2: Anfertigung des Maßstabes

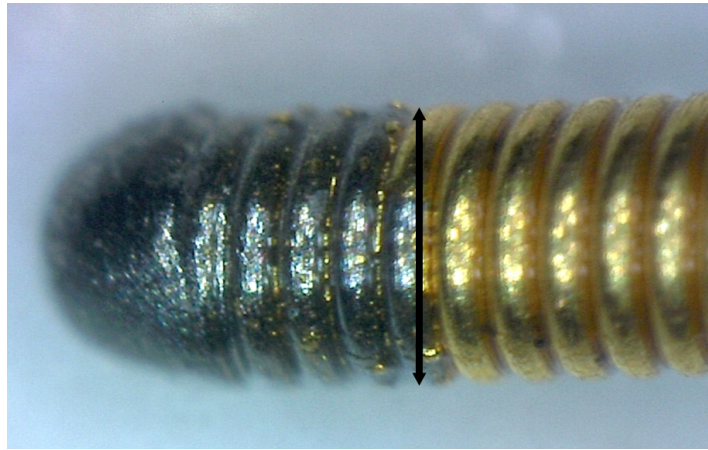
---

Da sich die Microcarrier vor- bzw. nach der Beladung mit einem Chemotherapeutikum hinsichtlich ihrer Form und Größe verändern, ist es wichtig einen geeigneten Maßstab zur Orientierung zu haben. Damit soll die Größenänderung quantifiziert und beurteilt werden können.

Für die Anfertigung des Maßstabes wurden folgende Materialien und Computerprogramme verwendet:

- Draht: ev 3™ NITREX™. 0.018“x 80cm, Durchmesser 0,46mm, REF: N180802, LOT: 10380716 (ev3 Endovascular, Inc.)
- Mikroskopische Bilder:
  - Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No: 88-5400 (Bresser)
  - Software: Future WinJoe
  - Paint: Microsoft Windows 8, Version 6.2 (Build 9200) ©Microsoft Corporation

Zu Beginn wird der Draht mit einem Durchmesser von 0,46mm mit dem Mikroskop fotografiert und über die Software FutureWinJoe gespeichert und mit Hilfe von Paint bearbeitet.

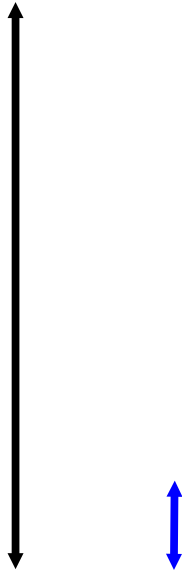


*Abbildung 16: Draht: ev 3™ NITREX™. 0.018" x 80cm, Durchmesser 0,46mm mit der Referenzgerade von 460µm (Vergrößerung 2)*



*Abbildung 17: Draht: ev 3™ NITREX™. 0.018" x 80cm, Durchmesser 0,46mm, mit der Referenzgerade von 460µm (Vergrößerung 1)*

Der Maßstab dient bei der Auswertung der Mikroskopiebilder als Anhaltspunkt für die Größen der Microcarrier.



*Abbildung 18: Maßstab zum Größenvergleich bei den Messungen, die Länge des Pfeils entspricht jeweils 460µm*

#### Auswahl der verwendeten Embolisationmaterialien

Die Auswahl der geeigneten Materialien beschränkt sich auf partikuläre Embolisationsmaterialien, flüssige oder metallische Materialien werden nicht verwendet und untersucht.

1. Hepaspheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
2. DCBeads® 300-500µm, REF: DC2V305 (Terumo)

Um einen Überblick über den Versuchsaufbau zu schaffen, der einen Körperkreis in vitro simulieren soll, wurden Fotos der einzelnen Systeme angefertigt. Um optimale Bedingungen, vergleichend den Körperbedingungen zu haben, wurde der Raum für die Versuche jeweils auf 37°C aufgeheizt. Es wurden zwei identische Systeme für die beiden Microcarrier verwendet. Als Spülflüssigkeit wurde ausschließlich Natriumchlorid verwendet (s. Abb. 20). Um den kontinuierlichen Fluss vergleichend einem Blutfluss zu imitieren, wurde eine konstante Fließgeschwindigkeit von circa 30ml/h (s. Abb. 21) eingestellt und über ein Infusionssystem mit den Filtern verbunden. Nach Passage des Filters wurde die restliche Flüssigkeit gesammelt, um die Gesamtextinktion bestimmen zu können.





Abbildung 19: Versuchsaufbau für den Versuch der Elution von Epirubicin der HepaSpheres (rechtes System) und der DCBeads (linkes System)

Abbildung 20: 500ml 0,9% NaCl als Spülflüssigkeit

Abbildung 21: Messregler zur Einstellung der Flussgeschwindigkeit in ml/h

Abbildung 22: Auffangbehälter für die mit NaCl gespülten Microcarrier







*Abbildung 23: Microcarrier auf Intrapur®Lipid Filter*

*Abbildung 24: Sammelbehälter für die Spülflüssigkeit um die Gesamtextinktion zu bestimmen*

Die folgenden Bilder zeigen die HepaSpheres® in nativem, trockenem Zustand. Dafür wurde das Mikroskop mit der Software FuturWinJoe verwendet.

Die dargestellten Lichtreflexe in Form von acht zirkulär angeordneten Punkten auf den Mikroskopiebildern müssen als Artefakte betrachtet werden (s. Abb. 25). Diese Punkte entstehen durch Lichtreflexionen auf der Oberfläche der Flüssigkeit, in welcher sich die Embolisationsmaterialien befinden.



*Abbildung 25: native HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)*

### 3.3: Material und Methoden der Vorversuche

---

Um die Kinetik und das Verhalten vor, während und nach der Beladung der HepaSpheres beurteilen zu können, wurden die Mircospheres unter einem Mikroskop mit zwei verschiedenen Vergrößerungsstufen betrachtet und fotografiert.

Von besonderem Interesse war dabei die Veränderung hinsichtlich Form und Größe der Sphären. Nach der Beladung erfolgt unter Einhaltung der Körpertemperatur von circa 37°C die simulierte

Passage durch einen imaginären Körperkreislauf unter Bestimmung der Extinktionen zu bestimmten Zeitintervallen. Dies ermöglichte die Erstellung einer Zeit-Dosis-Kurve für die HepaSpheres und für die DCBeads.

### 3.3.1: Beladung der HepaSpheres mit königsblauer Tinte

---

Um die Kinetik und die Formänderungen der HepaSpheres vor und während der Beladung beurteilen zu können, wurden sie in einem Vorversuch mit handelsüblicher königsblauer Tinte angefärbt und unter dem Mikroskop betrachtet. Ohne diese Färbung erscheinen die Microcarrier als durchsichtige Kugeln, die zudem einen sehr kleinen Durchmesser haben, weshalb die Beobachtung unter dem Mikroskop und später im Filter fast unmöglich gewesen wäre. Dafür wurden folgende Materialien verwendet:

- Pelikan 4001 TP6, königsblau
- HepaSpheres® [30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)]
- 2ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican® Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)
- Glasplatte
- Messer

Um die Microcarrier HepaSpheres mit blauer Tinte anzufärben, wird ein kleiner Anteil der Microcarrier mit einem handelsüblichen Messer aus der Verpackung vom Flaschenhals entnommen und mit ca. 1ml von der königsblauen Tinte beträufelt, die mit Hilfe der 2ml Spritze und den Standardkanülen entnommen wurde.

Zu diesem Zeitpunkt befinden sich die Microcarrier auf einer Glasplatte, um sie anschließend mikroskopieren zu können.

### 3.3.2: Auswaschversuch der Tinte mit Natriumchlorid 0,9% und Leitungswasser

---

Nun sollte das Elutionsverhalten der Embolisate getestet werden. Dazu wurde, um verschiedene Versuchsbedingungen zu simulieren, jeweils ein Tropfen Leitungswasser bzw. ein Tropfen NaCl 0,9% zu den mit der Tinte beladenen Sphären hinzugegeben und das Verhalten der Microcarrier unter dem Mikroskop betrachtet.

### 3.3.3: Beladung der HepaSpheres mit Methylenblau

---

Um das Anfärbeverhalten der Microcarrier noch besser einschätzen und untersuchen zu können, wurde im folgenden Versuch mit Methylenblau gearbeitet. Normalerweise findet Methylenblau seine Verwendung hauptsächlich als Färbemittel, aber auch in der Medizin wird es in vielen Bereichen, wie zum Beispiel als Antidot bei Nitritvergiftungen oder zur Behandlung chronischer Rückenschmerzen sowie neuropathischem Schmerz verwendet. Es zeichnet sich vor allem durch seine anti-inflammatorischen Eigenschaften aus, die durch Bindung an die NO-Synthase (NOS) und die Blockade von cGMP ermöglicht werden. NO akkumuliert vor allem bei neuropathischen Schmerzpatienten.<sup>81</sup>

Gleichzeitig wirkt es als Antioxidans und verhindert die Bildung freier Sauerstoffradikale.<sup>82</sup> Die hohe Lipophilie des Methylenblaus<sup>83</sup> ermöglicht eine gute Passage durch Biomembranen und ist für die hohe Affinität zu Nervenzellen verantwortlich.<sup>84</sup>

In dieser Arbeit dient es hauptsächlich als Vergleichsmaterial, um die Kinetik der HepaSpheres besser einschätzen zu können. Die Beladung erfolgte analog zur Beladung mit der königsblauen Tinte: Mit Hilfe des Messers konnten einige Microcarrier aus der Flasche entnommen und auf eine Glasdeckplatte übertragen werden. Nun wurde in die Spritze ca. 1ml des Methylenblaus aufgezogen und auf die Sphären gespritzt.

### 3.3.4: Testung der osmotischen Resistenz mit destilliertem Wasser

---

In einem weiteren Versuch wurden die nativen, ungefärbten HepaSpheres® wieder auf einer Glasplatte betrachtet und mit destilliertem Wasser aus einer 2ml Spritze beträufelt, um so die osmotische Resistenz der Sphären zu testen. Diese Frage ist vor allem für die zu verwendende Spülflüssigkeit im Katheter interessant, im Sinne einer möglichen Destruktion der Sphären durch den Kontakt mit dem destilliertem Wasser.

### 3.4: Material und Methoden: Experimenteller Teil mit den HepaSpheres

---

#### 3.4.1: Beladung der HepaSpheres mit Epirubicin

---

In den bereits zu diesem Thema erschienenen Studien beschäftigen sich die Autoren hauptsächlich mit Doxorubicin als Chemotherapeutikum. In dieser Arbeit wurde Epirubicin zur Beladung Microcarrier HepaSpheres® verwendet, um diese dann hinsichtlich ihres Elutionsverhaltens mit den DCBeads® (Terumo) zu vergleichen.

Da anstatt Doxorubicin Epirubicin verwendet wurde, soll im Folgenden kurz auf dieses Chemotherapeutikum eingegangen werden und dessen Aufbau, Struktur und Anwendungsgebiete erläutert werden. s

Epirubicin gehört zu den Anthrazyklinen und hat die Summenformel  $C_{27}H_{29}NO_{11} \cdot HCl$ . In der Onkologie findet es in Form eines Hydrochlorids Anwendung bei verschiedensten Tumorthérapien. Es handelt sich um eine aus Streptomycesbakterien isolierte antibiotisch und zytostatisch wirkende Verbindung.

Die Anthrazykline bewirken eine Interkalation und Doppelstrangbruchbildung der Tumor-DNA und eine Blockade der Topoisomerase II. Außerdem entstehen durch Biotransformation freie Radikale und die Permeabilität der Zellmembran wird erhöht. All die genannten Effekte sind für die zytostatischen Wirkungen des Epirubicins verantwortlich. <sup>85</sup>

Es wird vor allem für die Behandlung von HCC, Non-Hodgkin-Lymphomen, Sarkomen, Ovarialkarzinomen, Mamma- und Magenkarzinomen im klinischen Alltag eingesetzt. Des weiteren kommt es bei der Therapie von Lungenkarzinomen, sowohl beim kleinzelligen Lungenkarzinom als auch beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom zum Einsatz. <sup>86</sup>

Als Nebenwirkungen sind vor allem die Kardiotoxizität mit Kardiomyopathie sowie schwere linksventrikuläre Dysfunktionen, die im Verlauf der Behandlung auftreten können, hervorzuheben. Diese Nebenwirkungen sind jedoch geringer als bei einer Therapie mit Doxorubicin.<sup>87</sup> Da die Kardiotoxizität vor allem eine langfristige Nebenwirkung ist, die durch eine kumulative Maximaldosis erreicht wird, können durch den Einsatz von Epirubicin anstatt Doxorubicin mehrere Behandlungszyklen oder höhere Dosen zum Einsatz kommen, da die maximale kumulative Dosis des Epirubicins fast doppelt so hoch liegt wie bei Doxorubicin.<sup>87</sup>

Wie bei fast allen Chemotherapeutika treten allgemeine Nebenwirkungen wie Knochenmarksdepression mit Panzytopenie, Übelkeit, Erbrechen, Alopezie, gastrointestinale Nebenwirkungen und Abgeschlagenheit bei vielen Patienten auf.<sup>88 89</sup>

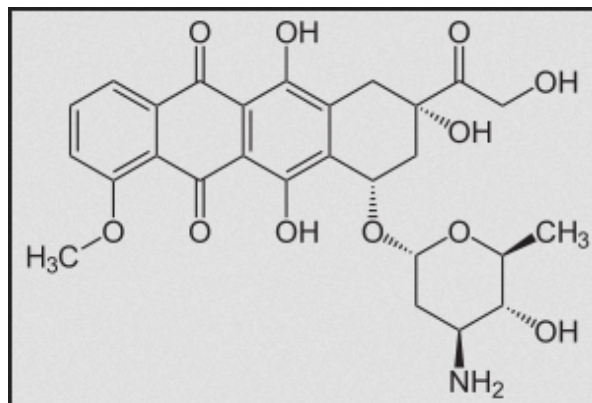


Abbildung 26: chemische Strukturformel Epirubicin

#### Beladung der HepaSphere Microsphären mit Epirubicin im Versuchslabor

Im folgenden Abschnitt werden die Hinweise des Herstellers BioSphere Medical bezüglich der Beladung der HepaSpheres beschrieben. Nach der Beladung werden die Microcarrier unter dem Mikroskop betrachtet, um eventuell aufgetretene Form- und Größenveränderungen festzuhalten. Die folgende Anleitung bezieht sich auf die Beladung von 50mg Doxorubicin für eine Ampulle HepaSpheres. Simultan verläuft die Beladung mit Epirubicin.

1. Zunächst wird die gelbe Verschlusskappe der Ampulle unvollständig entfernt, so dass der

Metallring und die Kappe erhalten bleiben

2. Mehrmaliges vorsichtiges Drehen der Ampulle, um die Mircospheres zu verteilen.
3. Unter Verwendung einer 30ml Spritze und einer 20G Nadel wird die 50g Epirubicinlösung mit 20ml 0,9%igem NaCl hergestellt.
4. Mit einer neuen 20ml Spritze und einer neuen 20G Nadel wird der gesamte Inhalt von 20ml Epirubicin in die Spritze aufgezogen.
5. Mit einer neuen 20G Nadel werden nun 10ml des hergestellten Chemotherapeutikums in die HepaSpheres Ampulle injiziert.
6. Die Flüssigkeit fünf bis zehn Mal auf- und abkippen, so dass die Lösung die graue Verschlusskappe berührt. Die Lösung nun für zehn Minuten stehen lassen, dabei immer wieder schütteln, um die Sphären mit dem Chemotherapeutikum zu mischen.
7. Mit einer neuen 20G Nadel wird der gesamte Inhalt der Ampulle mit den beladenen Sphären in eine 30ml Spritze aufgezogen. Die entstandene Epirubicin-Mischung (25mg/10ml) befindet sich nun in der Spritze. Es ergibt sich eine Mischung von insgesamt 50mg Epirubicin in 20ml 0,9%iger Kochsalzlösung. Nochmaliges vorsichtiges Schütteln der in der Spritze enthaltenen Flüssigkeit.
8. Entfernung der Nadel und Verschließen der Spritze mit einem Stöpsel. Die Lösung für 60 Minuten ruhen lassen, um eine optimal Aufnahme des Epirubicins in die Microcarrier zu erzielen. Dabei alle paar Minuten mischen.













<p><b>1</b></p>  <p>Lift the cap from the HepaSphere Microspheres vial to the vertical position taking care NOT to remove the cap or the metal retaining ring from the vial.</p>	<p><b>2</b></p>  <p>Roll the HepaSphere Microspheres vial several times to disperse microspheres.</p>	<p><b>3</b></p>  <p>Using a 30mL syringe and a 20G needle, reconstitute the 50mg doxorubicin vial with 20mL preservative-free 0.9% sodium chloride. <b>DO NOT USE STERILE WATER.</b></p>
<p><b>4</b></p>  <p>Using a new 30mL syringe with a new 20G needle, withdraw 20mL (the entire contents) from the doxorubicin vial (50mg) prepared in Step 3.</p>	<p><b>5</b></p>  <p>Using a new 20G needle, inject 10mL of doxorubicin from Step 4 into the HepaSphere Microspheres vial. Note: there may be a vacuum in the HepaSphere Microspheres vial.</p>	<p><b>6</b></p>  <p>Rotate and invert the HepaSphere Microspheres vial back and forth 5 to 10 times so that the liquid contacts the gray stopper. Let the vial stand for 10 minutes.</p> <p>- Invert and shake every few minutes to continue to mix the spheres with the doxorubicin.</p> <p> Wait 10 min.</p>
<p><b>7</b></p>  <p>After the 10 minutes from Step 6, using a new 20G needle, withdraw the entire contents of the HepaSphere Microspheres vial into the 30mL syringe containing the remaining doxorubicin (25mg/10mL) prepared in Step 4. This results in a total of 50mg of doxorubicin in 20mL of fluid. (Do not attempt to extract every sphere). Gently agitate the syringe to completely mix and disperse the contents.</p>	<p><b>8</b></p>  <p>Remove the needle and cap the syringe. Note the time and wait 60 minutes to optimize the uptake of the doxorubicin into the spheres. Agitate every few minutes during loading.</p> <p> Wait 60 min.</p>	

Abbildung 27: Anleitung zur Beladung der HepaSpheres

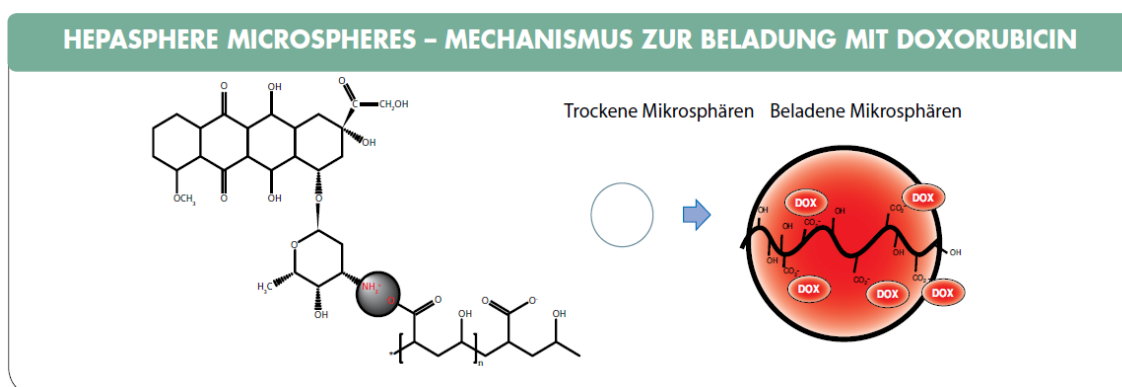
Der Hersteller Merit Medical Systems gibt als mögliche Komplikationen bei der Behandlung mit den Embosphären folgende Angaben:

- Lähmung aufgrund einer nicht gezielten Embolisation oder Schädigung durch Ischämie aufgrund eines Ödems des umgebenden Gewebes
- Unerwünschter Rückfluss oder Eindringen von HepaSphere Mikrosphären in normale



- Arterien nahe der angezielten Läsion oder durch die Läsion in andere Arterien oder Arterienbetten, wie die innere Kopfschlagader, die Lungen- oder Herzkranzgefäße
- Lungenembolie aufgrund arteriovenöser Shunts
  - Ischämie an einer unerwünschten Stelle, wie beispielsweise ischämischer Schlaganfall, ischämischer Infarkt (u.a. Myokardinfarkt) und Gewebsnekrose
  - Okklusion des Kapillarnetzes und Gewebeschädigung
  - Vasospasmus
  - Rekanalisation
  - Blindheit, Hörverlust und Verlust des Geruchssinns
  - Fremdkörperreaktionen, die eine medizinische Intervention erforderlich machen
  - Infektionen, die eine medizinische Intervention erforderlich machen
  - Komplikationen im Zusammenhang mit der Katheterisierung (z. B. Hämatom an der Einstichstelle, Thrombus an der Katheterspitze und anschließende Ablösung sowie Nerven- und/oder Gefäßverletzungen, die zu einer Verletzung des Beins führen können)
  - Allergische Reaktion gegen Medikamente (z. B. Schmerzmittel) <sup>90</sup>
- (alle Angaben laut Hersteller)

Der Beladungsmechanismus erfolgt nach dem Ionenaustauschprinzip <sup>91</sup>, dieser Vorgang selbst ist reversibel. Das positiv geladene Hydrochlorid des Doxorubicins interagiert mit dem negativ geladenen Acrylat der HepaSphere Microspheres (s. Abb. 28).



**Abbildung 28:** Beladungsmechanismus der HepaSphere Mikrosphären mit Doxorubicin

Für die Versuche wurden folgende Materialien verwendet:

- Microcarrier HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
- 20ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- 30ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)
- Epirubicin
- Filter: Intrapur®Lipid (1,2µm BRAUN) Filter
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser)
- Software: Future WinJoe

Die Beladung der Microsphären erfolgte genau wie oben beschrieben unter Verwendung von Epirubicin. Nach der angegebenen Inkubationszeit von 60 Minuten wurden die Sphären mit Hilfe einer 20ml Spritze auf den Intrapur® Lipid Filter gespritzt und an den Simulationskreislauf im Versuchslabor angeschlossen.

#### 3.4.2: Test der mechanischen Belastbarkeit der mit Epirubicin beladenen Sphären

---

Um eine Vorstellung über die Belastbarkeit der Sphären zu gewinnen, wurden die HepaSpheres in einem weiteren Versuchsteil verschiedenen mechanischen und chemischen Einflüssen ausgesetzt. So sollte eine grobe Vorstellung über die Formveränderungen der Sphären unter mechanischer und chemischer Belastung, vor allem hinsichtlich der Katheterpassage, gewonnen werden.

Die hierfür verwendeten Materialien sind im folgenden aufgelistet:

- Microcarrier HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical) beladen mit Epirubicin
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser)
- Software: Future WinJoe
- 10ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)
- Pipette
- Glasdeckplatte

### 3.4.3: Testen der osmotischen Resistenz der beladenen Sphären mit Leitungswasser

---

Da der Katheter vor und nach der Injektion der Sphären jeweils mit Natriumchloridlösung gespült wird, darf der Kontakt zu dieser Lösung nicht zu einem Wirkverlust durch Abgabe des Zytostatikums führen. Vom Hersteller wird angegeben, dass hierfür kein destilliertes Wasser verwendet werden soll, da die Sphären dem osmotischen Gradienten nicht standhalten können und platzen würden. Der Einsatz von Leitungswasser wird vom Hersteller nicht erwähnt, weshalb die Microcarrier nach ihrer Beladung mit normalem Leitungswasser gespült wurden. Analog zur mechanischen Belastung wurden die Sphären erneut mit Epirubicin beladen und nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit von einer Stunde auf eine Glasplatte gespritzt. Mit Hilfe einer neuen Spritze wurden die Sphären mit Leitungswasser gespült und das Verhalten unter dem Mikroskop beobachtet.

### 3.4.4: Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron

---

Um neben des Beladungs- und Elutionsverhaltens der HepaSpheres mit Epirubicin ein besseres Verständnis für die Kinetik der Sphären zu gewinnen, wurde Mitoxanthron als weiteres Chemotherapeutikum ausgewählt.

Mitoxanthron gehört zur Gruppe der Topoisomerase II Inhibitoren und wurde erstmals zur Behandlung der Akuten Myeloischen Leukämie (AML) zugelassen. Mittlerweile kommt es vor allem bei Mamma- und Prostatakarzinomen, aber auch bei der Akuten Lymphatischen Leukämie (ALL) zum Einsatz, wobei sich vor allem der Einsatz bei Mammakarzinom auf Grund guter Behandlungserfolge im klinischen Alltag etabliert hat. Im Vergleich zu den Antrazyklinen, wie zum Beispiel Doxorubicin, zeichnet sich Mitoxanthron durch ein geringeres Nebenwirkungsprofil aus, wenngleich natürlich die selben Nebenwirkungen wie bei Doxorubicin auftreten können. Am häufigsten kommt es zu hämatologischen und gastrointestinalen Nebenwirkungen. Allerdings treten Übelkeit, Erbrechen und Stomatitis bei der Behandlung mit Mitoxanthron seltener auf, als bei der Behandlung mit Doxorubicin. Die Kardiotoxizität als spezifische Nebenwirkung der Antrazykline kann auch bei Mitoxanthron auftreten.<sup>90</sup>

Zur Beladung wurden folgende Materialien verwendet:

- Microcarrier HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
- Mitoxanthron
- 20ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- 30ml Spritze: Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)
- Filter: Intrapur®Lipid (1,2µm BRAUN) Filter
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser)
- Software: Future WinJoe

Der Beladungsvorgang erfolgte analog zur Beladung mit Epirubicin, wobei ebenfalls nach einer Inkubationszeit von einer Stunde die Sphären auf den Filter gespritzt wurden und an den künstlichen Körperkreislauf zur Spülung angeschlossen wurden.

Als weitere Beladungsmedien wurden Ferritin, Vitamin B12 und Rifampicin verwendet, wobei hierbei erwähnt werden muss, dass nur farbige Materialien in Frage kamen, da es sonst unmöglich gewesen wäre, den Beladungsvorgang mittels mikroskopischer Bilder zu dokumentieren.

Hintergrund dieser Versuche ist folgender: theoretisch wäre es denkbar, dass auch eine Beladung der HepaSpheres mit den oben genannten Stoffen Gebrauch im klinischen Alltag finden könnte, sollten die Beladungs- und Elutionsvorgänge gut funktionieren. Diese Tatsache würde den Einsatzbereich der HepaSpheres enorm erweitern!

Da die HepaSpheres bislang fast nur für die Behandlung der oben genannten Krankheitsbilder zugelassen sind, erfolgte die Beladung mit Ferritin, Vitamin B 12 und Rifampicin ohne spezifische Anleitung. Der Beladungsvorgang wurde analog zur Beladung mit Epirubicin gestaltet.

### 3.4.5: Beladung der HepaSpheres mit Rifampicin (Eremfat® 300mg)

---

Im folgenden Versuchsteil wurden die Sphären mit dem Antibiotikum Rifampicin beladen. Rifampicin ist ein hochwirksames bakterizides Antibiotikum der Pilzart *Streptomyces mediterranei*. Es hat ein sehr breites Wirkspektrum über die Hemmung der DNA abhängigen RNA-Polymerase der Bakterien, sowohl gegen gram-negative und gegen gram-positive sowie atypische Bakterien. Es wird vor allem beim Auftreten von *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes* und *Streptococcus pneumoniae*, Listerien, Neisserien und Legionellen nach entsprechendem Antibiogramm angewendet. Es hat sich als Standardantibiotikum in der Tuberkulosetherapie in Kombination mit Isoniazid, Pyrazinamid und Ethambutol etabliert<sup>92</sup> und kommt auch bei anderen Erkrankungen als Reservemittel zum Einsatz, falls bereits Resistenzen vorliegen. Auch zur Prophylaxe einer Meningokokken-Enzephalitis kann es eingesetzt werden.<sup>93 94</sup> Als Nebenwirkungen können Leberzellschädigung,<sup>95</sup> gastrointestinale Beschwerden, Anämie, Thrombozytopenie und sehr selten ein Exanthem beobachtet werden. Rifampicin ist teratogen, weshalb es in der Schwangerschaft kontraindiziert ist.<sup>96 97</sup>

Sollte die Beladung erfolgreich sein, wäre es natürlich auch möglich, andere Antibiotika einzusetzen, um das Einsatzgebiet der HepaSpheres zu erweitern.

Es wäre mitunter denkbar, verschiedene Klassen von Antibiotika direkt im Bereich der Entzündung zu applizieren, sollte es sich um eine lokal beschränkte Entzündungsreaktion handeln, die sich nicht systemisch im ganzen Körper abspielt. Vorstellbare Einsatzbereiche wären hierfür z.B Abszesse der Haut oder Infektionen einzelner Organe (Hepatitiden, Pyelonephritis, Endokarditis). Um diese Theorie zu überprüfen, wurden die HepaSpheres im Versuchslabor mit Rifampicin beladen und unter dem Mikroskop betrachtet.

Für den Versuch kamen folgende Materialien zum Einsatz:

- Rifampicin: Eremfat® i.v 300mg , Artikelnummer: 03186347; RIEMSER Arzneimittel, Greifswald, Deutschland.
- HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser)
- Software: Future WinJoe

- Spritze 20ml Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)

Die Beladung erfolgte analog zur Beladung mit Epirubicin: Es wurden etwa 10ml des Rifampicins in einer Spritze aufgezogen und direkt auf die sich auf einer Glasplatte befindenden Microcarrier gespritzt und der Beladungsvorgang sofort unter dem Mikroskop betrachtet.

#### 3.4.6: Beladung der HepaSpheres mit Ferritin

---

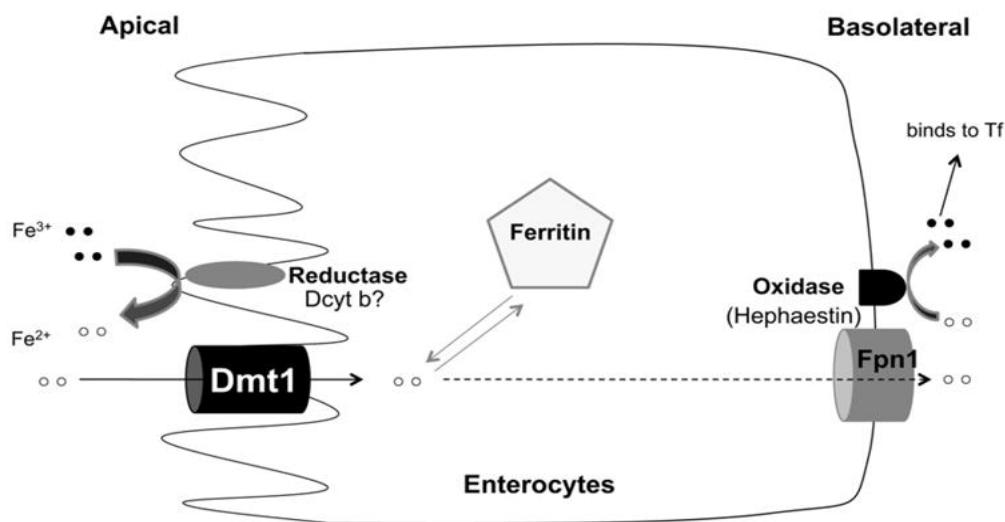
Laut Schätzungen leiden weltweit ungefähr 1,6 Billionen Menschen unter einer auf Eisenmangel basierenden Anämie.<sup>97</sup> Dies hat die größten Auswirkungen auf die Mortalität von Müttern und Kindern, aber auch auf deren Allgemeinzustand. Auch Menschen mit chronischen Erkrankungen, wie zum Beispiel Nierenerkrankungen, Herz-Kreislaufferkrankungen, chronische Darmerkrankungen und Krebserkrankungen sind häufig betroffene Patienten.<sup>98</sup>

Im menschlichen Körper werden etwa 4-5g Eisen, vor allem in Form des Hämoglobins (ca. 65%) gespeichert. Den Rest findet man in Enzymen, im Myoglobin (10%), in der Leber in den Makrophagen gespeichert oder in Form von Depot- oder Reservereisen (Ferritin, Hämosiderin). Der tägliche Bedarf liegt bei circa 25mg wobei 1-2mg über die Nahrung aufgenommen werden, der Großteil wird allerdings aus alternden Erythrozyten zurückgewonnen. Im Plasma liegt das Eisen fast ausschließlich an Transferrin gebunden vor und kann so zirkulieren.<sup>99 100</sup>

Über die Abschlieferung von Haut- und Mukosazellen sowie über den Urin, Stuhl und Schweiß gehen pro Tag etwa wieder 1-2mg verloren.<sup>100</sup> Durch Blutverluste, z.B während der Menstruationsblutung (1mg pro 2ml Blut),<sup>101</sup> geht allerdings deutlich mehr Eisen verloren, so dass es bei ungenügender Aufnahme über die Nahrung und der schlechten orale Bioverfügbarkeit mit einer enteralen Resorption von 10-15% zu einem Eisendefizit kommen kann. Laut WHO liegt die orale Bioverfügbarkeit bei einer normalen mitteleuropäischen Ernährung bei ungefähr 15%.<sup>102</sup>

Ein Eisenmangelzustand äußert sich meistens im Auftreten einer mikrozytären, hypochromen Anämie. Interessanterweise wird die Eisenhomöostase fast ausschließlich durch die Resorption von Eisen (Erythrophagozytose) und nicht durch die Exkretion gesteuert.<sup>101</sup> Um das fest an Eisenbindeproteine gebundene Eisen resorbieren zu können, ist eine ausreichende Säureproduktion und somit eine Aktivierung der Peptidasen notwendig, so dass das dreiwertige Eisen zu

zweiwertigem Eisen reduziert und dann im Dünndarm mit Hilfe des DMT1-Transporters resorbiert werden kann (s. Abb. 29). Den DMT1-Transporter findet man in den Enterozyten, aber auch im Duodenum. Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass es bei ausgeprägten Eisenmangelzuständen zu einer „Up-Regulation“ dieses Transporters kommt, so dass mehr Eisen resorbiert werden kann.<sup>100 101 102</sup> An der basolateralen Seite der Enterozyten sitzt der Fpn1-Transporter, über den das zweiwertige Eisen in die Blutzirkulation gelangt und dort an Transferrin gebunden wird.<sup>100 103</sup>



**Abbildung 29:** Darstellung der intestinalen Eisenresorption über den DMT1-Transporter

Auf Grund der schlechten oralen Bioverfügbarkeit des Eisens (nur etwa 10-15% werden enteral resorbiert und stehen somit dem Körper zur Verwertung zur Verfügung), ist es bei ausgeprägten Eisenmangelzuständen notwendig, das Eisendefizit intravenös auszugleichen. Gelänge es nun, die HepaSpheres mit dreiwertigem Eisen zu beladen (z.B. Fe-glucoronat), könnte die orale Bioverfügbarkeit und somit die Resorption eventuell erhöht werden, so dass auch bei starkem Eisenmangel eine orale Substitutionstherapie denkbar wäre. Um eine orale Eisensubstitution bei gravierenden Eisenmangelzuständen zu ermöglichen, müsste eine unabhängige Resorption des Eisens vom Magen-pH-Wert gelingen, da die Säureproduktion die Voraussetzung für die Aktivierung der eisenspaltenden Peptidasen ist. So könnte mitunter Patienten, welche eine Therapie mit Protonenpumpeninhibitoren erhalten, eine orale Eisensubstitution ermöglicht werden.<sup>104</sup>

Bei dem verwendeten Präparat Ferrlecit® 40mg handelt es sich um einen Eisen(III)- natrium- D- gluconat- hydroxid- oxid Komplex, welcher bei ausgeprägten Eisenmangelzuständen, die nicht mittels oraler Einnahme von Eisen kompensiert werden können, angewendet wird. Im Normalfall reicht bei Erwachsenen die Behandlung mit einer Ampulle Ferrlecit® als Infusionslösung verdünnt mit 100-250mg physiologischer Kochsalzlösung über 20-30min aus. Als mögliche Nebenwirkungen werden vom Hersteller Hämolyse, Hypotonie bis hin zum Kreislaufversagen, Lungenödem, Hautausschläge und Überempfindlichkeitsreaktionen mit Ödemen beschrieben.<sup>105</sup>

Es kamen folgende Materialien zum Einsatz:

- Ferritin: Ferrlecit ® 40mg (Sanofi), ATC-Code: B03AC07, Artikelnummer: 0375346, Frankfurt am Main, Deutschland
- HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
- Software: Future WinJoe
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser®)
- Spritze 20ml Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)

Die Sphären wurden erneut wie bereits oben beschrieben und gemäß den Herstellerangaben mit Ferritin (Ferrlecit® 40mg) Sanofi beladen. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wurde ein Teil der Sphären mit Hilfe einer Spritze auf eine Glasdeckplatte gespritzt und unter dem Mikroskop betrachtet.



### 3.4.7: Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12 (Cyanocobalamin 100µg/ml)

---

Vitamin B12 (Cobalamin) ist ein essentielles Vitamin, welches über die Nahrung aufgenommen werden muss. Es ist fast ausschließlich in tierischen Lebensmitteln enthalten. Im menschlichen Körper wird es als Cofaktor für die Nukleotidsynthese benötigt. Hier dient es der Methionin-Synthese und zur Regeneration des Enzyms S-Adenosylmethionin (SAM). Außerdem ist es unerlässlich für die Erythropoese, das ZNS sowie den Protein- und Fettstoffwechsel.<sup>106</sup>

Die Kombination aus einem Folat- und/oder Vitamin B12-Mangel kann sich in Form von entzündlichen Gefäßerkrankungen, Endothelläsionen oder einem erhöhten kardiovaskulärem Risiko bemerkbar machen.<sup>107 108</sup> Die auftretenden Symptome sind oft vielfältig und unspezifisch. Ein manifester Vitamin B12- Mangel äußert sich durch folgende Symptome: Zuerst kommt es zu einer makrozytären, hyperchromen Anämie (perniziöse Anämie). Bei fortgeschrittenem Vitamin B12-Mangel treten außerdem neurologische Symptome, wie zum Beispiel Kribbelparästhesien bis hin zu dementiellen Symptomen und funikulärer Myelose auf. Auch kognitive Probleme und psychische Veränderung werden häufig bemerkt.<sup>106 109</sup>

Da es sich bei Vitamin B12 um ein wasserlösliches Vitamin handelt, wird es im Magen unter dem Einfluss der Magensäure und Pepsin, das Protein, an das es gebunden ist, gelöst. Im Magen wird das nun frei vorliegende Vitamin B12 an Haptocorrin gebunden, ein Glykoprotein der Speicheldrüsen, um es so vor dem niedrigen pH-Wert zu schützen. Pankreasenzyme spalten das Haptocorrin im Duodenum und das Vitamin B12 wird an den von den Parietalzellen des Magens gebildeten Intrinsic factor gebunden. Im terminalen Ileum wird dieser Komplex dann erkannt und resorbiert, so dass circa 50% des sich in der Nahrung befindenden Vitamin B12 rückresorbiert werden kann. Nach Magen- oder Ileumteilresektionen kommt es deshalb zu einem idiopathisch bedingtem Vitamin B12- Mangel.<sup>110 111</sup> Auch Alkoholiker sind häufig von Vitamin B12- Mangel betroffen.<sup>112 113</sup>

Weiterhin treten Mangelerkrankungen bei Befall durch den Fischbandwurm, Malabsorption, Blind-loop-Syndrom oder Erkrankungen des terminalen Ileum, wie zum Beispiel Zöliakie (Sprue), Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn auf. Vor allem Patienten nach Darmresektionen, die einen Abschnitt des terminale Ileums, der größer als zwanzig Zentimeter war, betraf, litten vermehrt unter Vitamin-Mangelerkrankungen<sup>114 115 116 117</sup>

Des weiteren geht ein Vitamin B 12- Mangel häufig mit einer Typ A- Gastritis oder einer chronischen Hyperazidität einher. <sup>118</sup>

Diagnostisch lassen sich bei vielen Patienten Autoantikörper gegen die Parietalzellen (90% der Betroffenen) oder gegen den Intrinsic Factor (IF-Antikörper, bei 50% der Betroffenen) nachweisen.

<sup>119 120</sup>

Die Vitamin B12 Substitutionstherapie erfolgt normalerweise intramuskulär, kann aber auch intravenös oder subkutan erfolgen. Falls eine Infusion verabreicht werden soll, muss eine Verdünnung mit 250ml 0,9% physiologischer Kochsalzlösung vorgenommen werden.

Wie bei jeder Behandlung können auch bei der Behandlung mit Vitamin B 12 Nebenwirkungen auftreten; vom Hersteller werden hierzu folgenden Angaben gemacht:

- Überempfindlichkeitsreaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock
- Hautreaktionen: Akne oder urtikarielle bzw. ekzematöse Arzneimittelreaktionen <sup>121</sup>

Im folgenden Versuch sollen die HepaSpheres mit Vitamin B 12 (Cyanocobalamin) beladen werden. Gelänge der Beladungsvorgang, wäre es vorstellbar, dass für Patienten mit nachgewiesenem Intrinsic factor Mangel eine orale Substitutionstherapie angeboten werden könnte. Allerdings sind bislang keine oralen Therapieprinzipien für die HepaSpheres beschrieben worden.

Für den Versuch kamen folgende Materialien zum Einsatz:

- Vitamin B12: Vitamin B12- ratiopharm® N 100µg/ml Injektionslösung
- HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)
- Mikroskop: USB Digital-Handmikroskop 1,3 MP, Art. No.: 88-54000 (Bresser®)
- Software: Future WinJoe
- Spritze 20ml Omnifix® Solo (Braun®)
- Sterican®Standardkanülen, Art.-No./Ref.:4657519, Pharmacy code: 2050798 (Braun®)

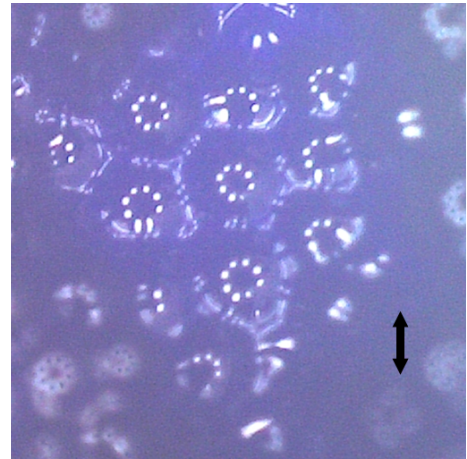
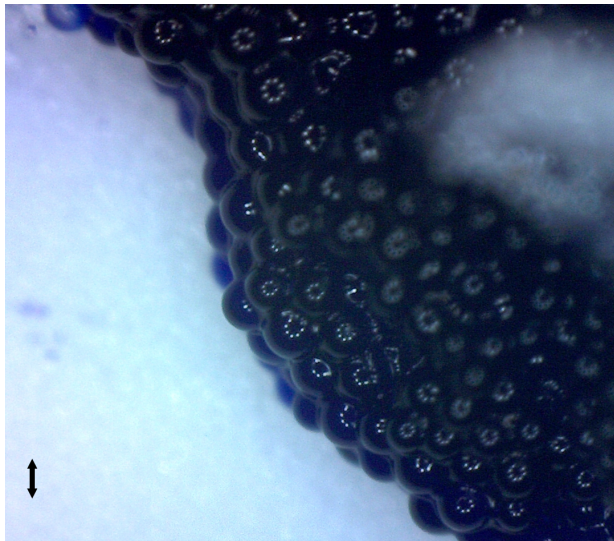
Analog zu den vorangegangenen Versuchen erfolgte die Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12. Nach einer Inkubationszeit von einer halben Stunde wurden die Sphären mit Hilfe einer Spritze auf einen Glasobjektträger aufgebracht und unter dem Mikroskop betrachtet.

## 4. Ergebnisse der Vorversuche

---

### 4.1.1: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit königsblauer Tinte

---



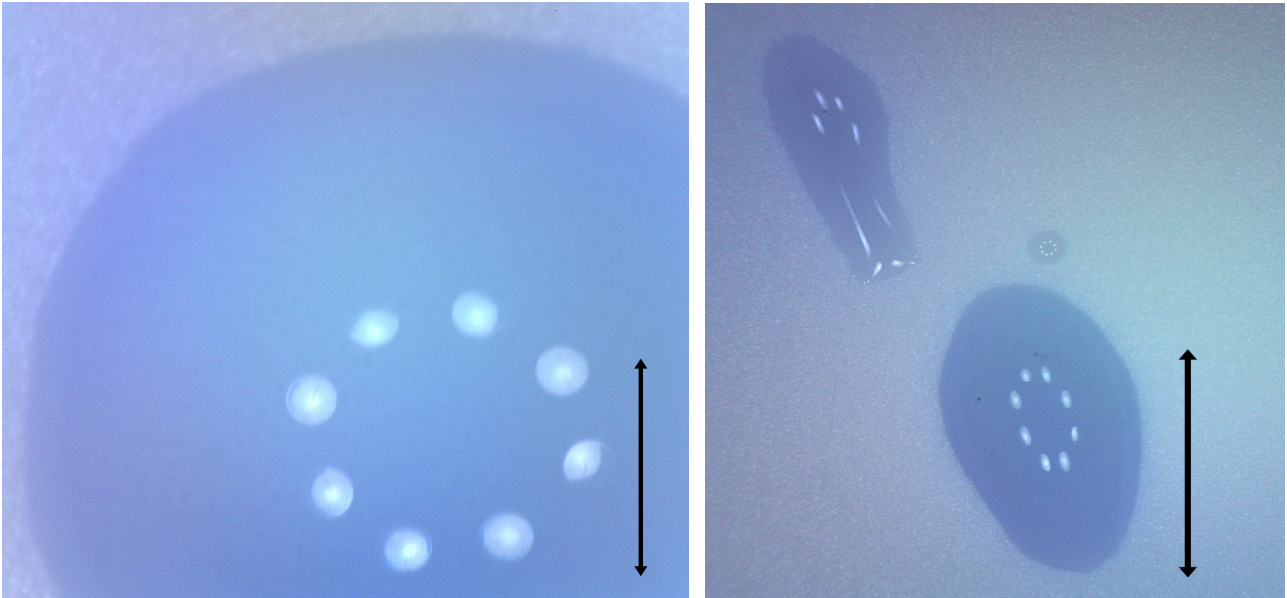
*Abbildungen 30 und 31: HepaSpheres® (BioSphere Medical) gefärbt mit königsblauer Tinte, circa 460µm (Vergrößerung 1)*

Es lässt sich bereits nach kurzer Zeit (ca. 1 Minute) eine gleichmäßige Aufnahme der Tinte in die HepaSpheres beobachten, wobei eine Destruktion der Embolisate nicht nachgewiesen werden konnte. Unter dem Mikroskop erscheinen die Sphären nun tiefblau. Es wurde der gesamte Milliliter der Tinte, der appliziert wurde, von den Sphären aufgenommen. Allerdings ist dies kein exakter Maßstab, da nicht genau bestimmt werden kann, wie viele Sphären mit dem Messer auf die Glasplatte übertragen wurden, so dass noch kein Eindruck von der wahren Beladungskapazität der Sphären gewonnen werden konnte.

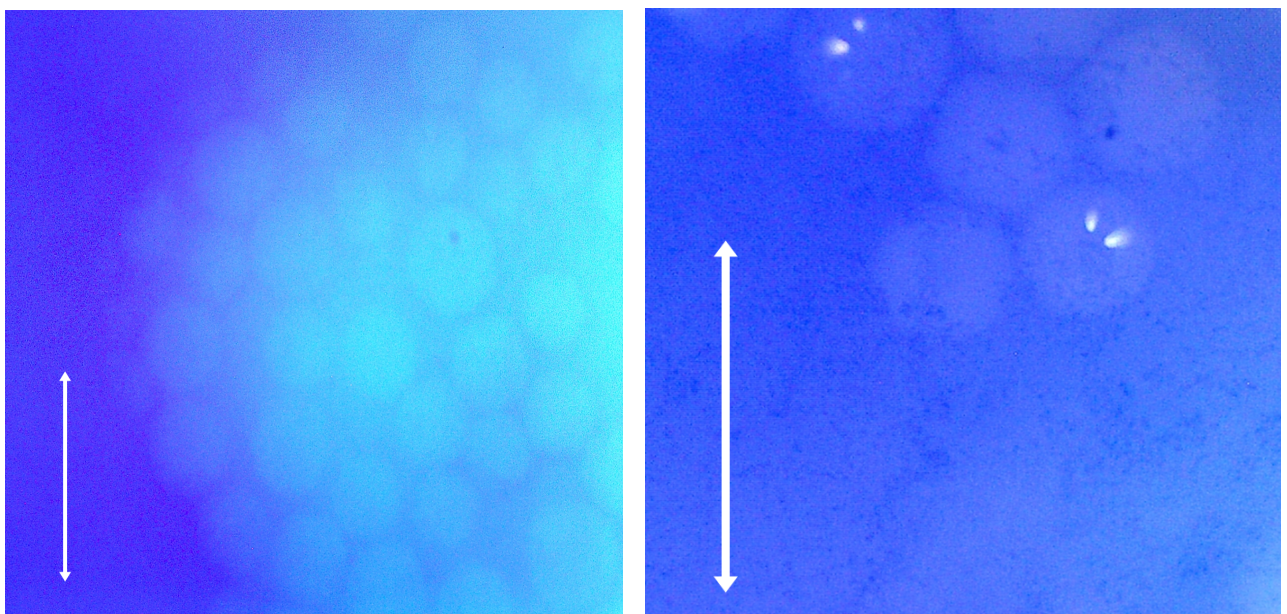
#### 4.1.2: Ergebnisse des Auswaschversuchs der Tinte mit Natriumchlorid 0,9%

---

Das Hinzugeben des NaCl 0,9% als Spülflüssigkeit führt zum Abspülen der überschüssigen Tinte (s. Abb. 32). Nach ca. 10-20 Sekunden zeigt sich nach Auswaschen mit NaCl eine eindeutige Entladung der Sphären (hypodens) im Vergleich zur ausgewaschenen Tinte in der Umgebung.



*Abbildungen 32 und 33: zunächst zeigen die HepaSpheres nach der Färbung mit königsblauer Tinte eine homogene Färbung in verschiedenen Größen. Im rechten Bild hat sich ein Microcarrier verformt.*



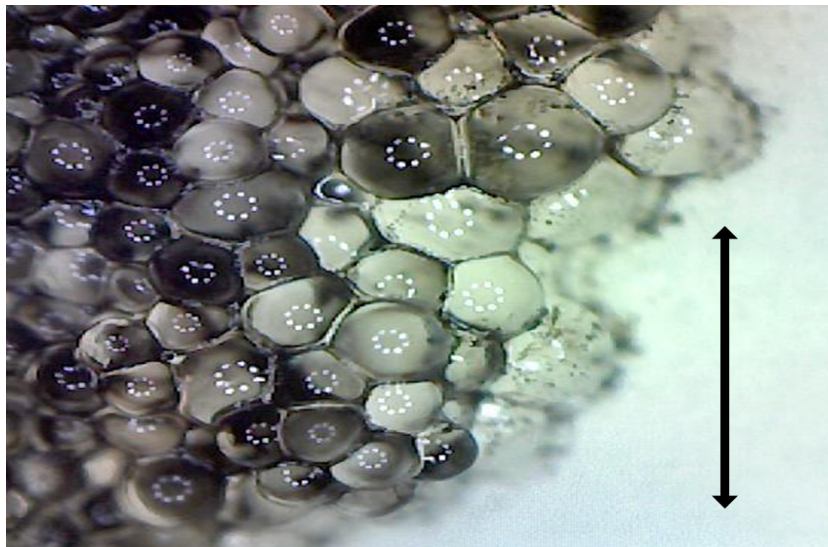
*Abbildungen 34 und 35: entfärbte Microcarrier nach dem Spülvorgang (Vergrößerung 2)*



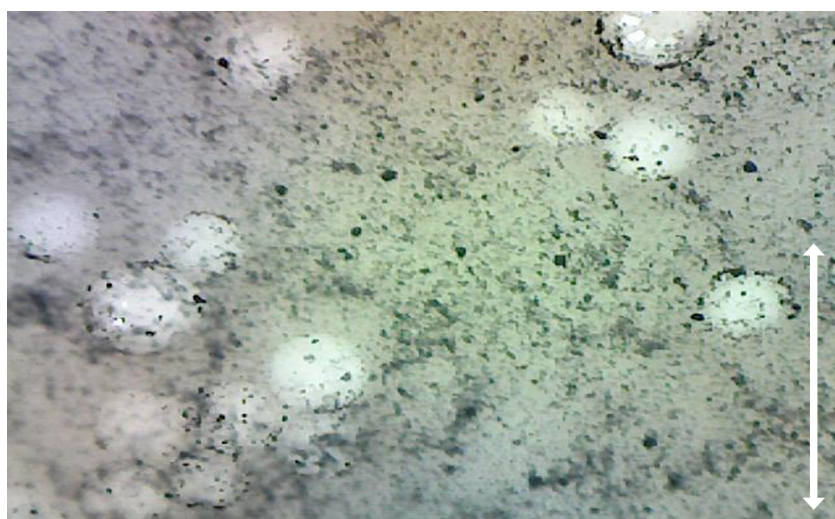
#### 4.1.3: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Methylenblau

---

Die Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Methylenblau sind mit denen der königsblauen Tinte vergleichbar: Es zeigt sich bei fast allen Kügelchen schnell eine homogene Färbung und eine deutliche Größenzunahme im Vergleich zu den nativen Sphären. Auch das Elutionsverhalten nach Beträufeln mit NaCl 0,9% differierte im wesentlichen nicht: Bereits nach wenigen Sekunden zeigte sich auch hier eine eindeutige Entfärbung der Sphären im Vergleich zur farbigen Umgebung. Dies ist auch deutlich auf den Bildern, die mit dem Mikroskop aufgenommen wurden, zu erkennen. Hier erscheinen die Sphären als runde weiße Punkte in grau-blauer Umgebung.



*Abbildung 36: HepaSpheres ® gefärbt mit Methylenblau. (Vergrößerung 2)*

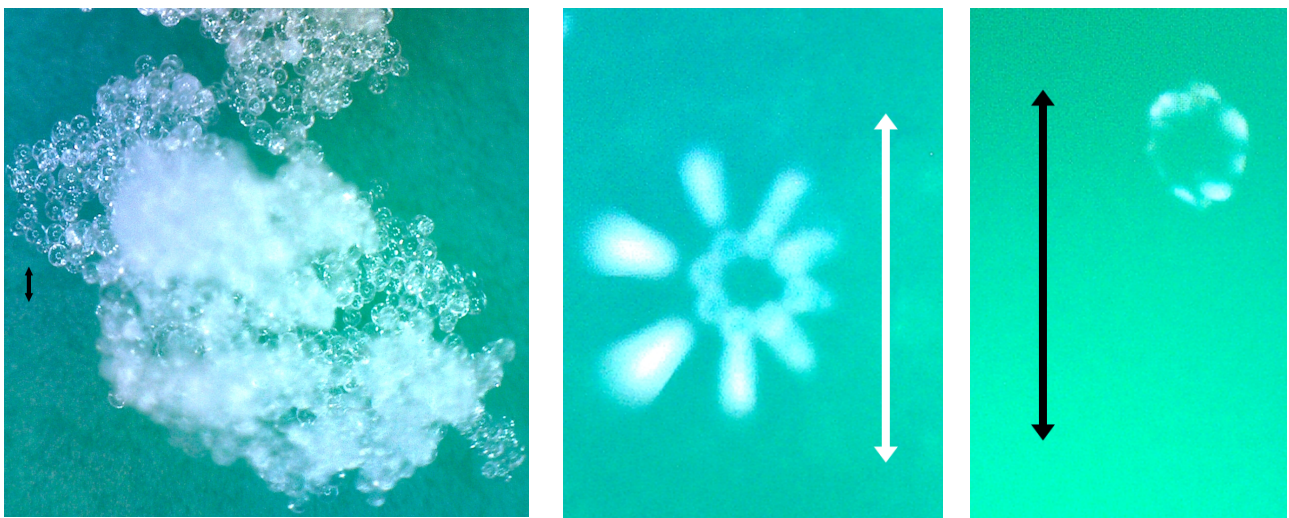


*Abbildung 37: HepaSpheres ® entfärbt nach dem Spülvorgang mit NaCl 0,9%*

#### 4.1.4: Ergebnisse der Testung der osmotischen Resistenz mit destilliertem Wasser

---

Während des Hinzugebens von destilliertem Wasser konnte man zunächst eine deutliche Größenzunahme der Sphären beobachten. Außerdem veränderten sie ihre Konsistenz zu einer geleeartigen Masse. Bei einigen Sphären konnte man auch beobachten, dass sie dem steigenden osmotischen Druck durch die Aufnahme des destillierten Wassers nicht standhalten konnten und platzten (s. Abb. 40). Daraus lässt sich folgern, dass man als Spülflüssigkeit im Katheter keinesfalls destilliertes Wasser verwenden darf und folglich nur isotone Kochsalzlösung zum Einsatz kommen sollte.

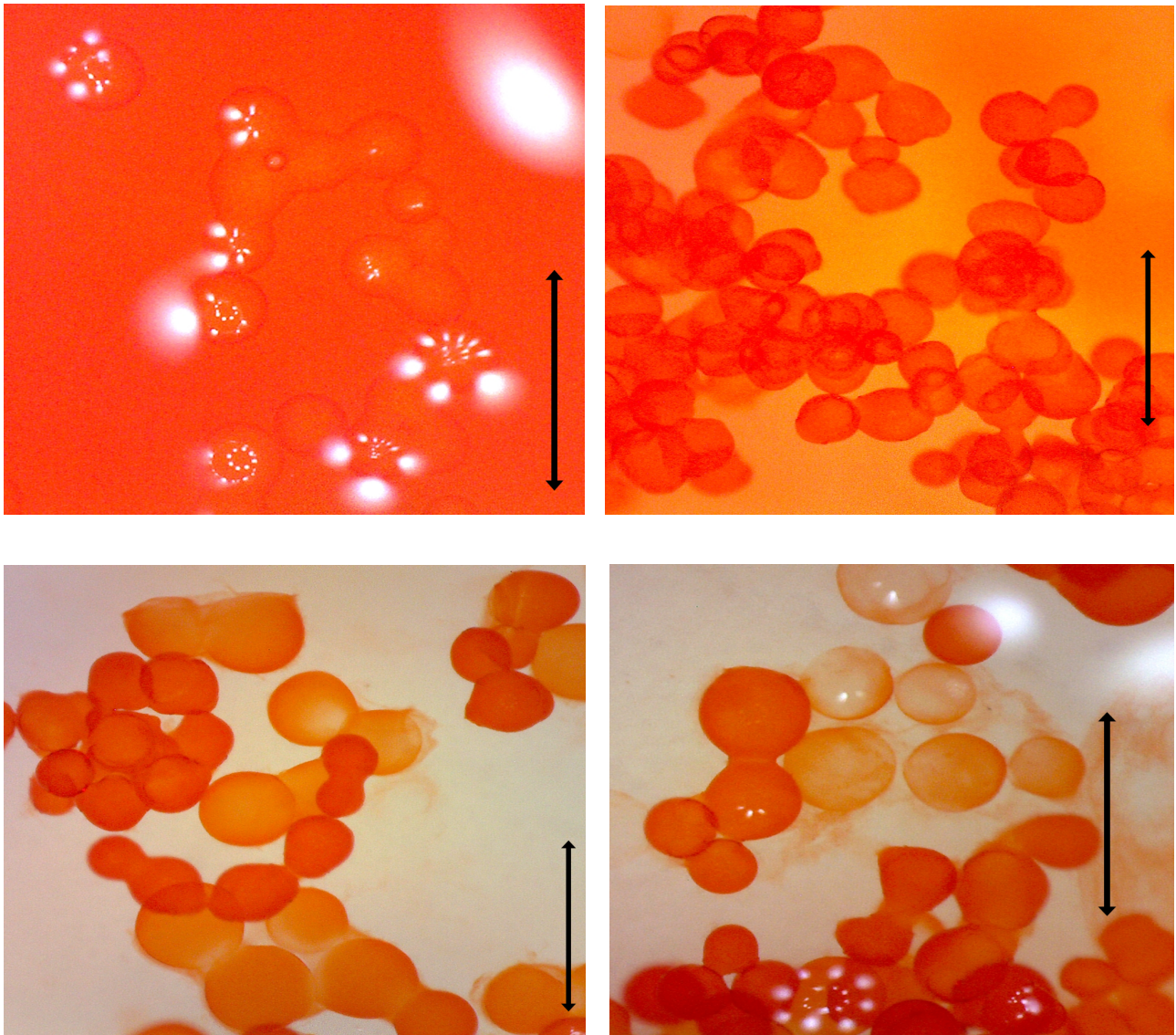


*Abbildungen 38, 39 und 40: HepaSpheres® vor dem Versuch, in destilliertem Wasser und in geplatzttem Zustand.*



## 4.2 Ergebnisse des experimentellen Teils der Beladung der HepaSpheres

### 4.2.1: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Epirubicin



*Abbildungen 41-44: : Beladungsvorgang der HepaSpheres mit Epirubicin nach einer, sieben, zwanzig und sechzig Minuten (Bilder von links oben nach rechts unten) (Vergrößerung 2).*

Man erkennt deutlich, dass die HepaSpheres im zeitlichen Verlauf von Beginn bis sechzig Minuten nach der Beladung das rötliche Epirubicin sehr gut mittels Ionenaustauschprinzip aufnehmen. Am Anfang lässt sich noch kein großer Unterschied zwischen den HepaSpheres und der sie umgebenden zytotoxischen Epirubicinlösung feststellen. Es zeigt sich allerdings sehr schön, dass

sich die Umgebung der Microsphären im zeitlichen Verlauf immer mehr entfärbt und dass schließlich fast das gesamte Epirubicin vollständig von den Sphären aufgenommen wurde. Die Größenveränderungen und das Aufquellen der Sphären findet direkt zu Beginn der Beladung statt und bleibt auch nach sechzig Minuten konstant. Es konnten keine geplatzten oder deformierten Sphären detektiert werden, was für eine gute Interaktion zwischen dem Epirubicin und den Sphären spricht.

#### 4.2.2: Auswertung und Interpretation des Elutionsverhaltens der HepaSpheres im Vergleich zu den DC Beads

---

Die bereits von der Apotheke des Klinikum Großhaderns ebenfalls mit Epirubicin beladenen DCBeads wurden über eine 20ml Spritze auf einen identischen Filter gespritzt und an den in vitro Körperkreislauf bei 36,8°C angeschlossen. Nun erfolgte bei beiden Systemen die Einstellung eines kontinuierlichen Flusses von circa 30 ml/h der 0,9%igen Natriumchloridlösung, so dass pro Zeit die gleiche Menge Natriumchlorid durch die mit den Sphären beladenen Filtern floss und eine identische Menge an gespülter Flüssigkeit entstand.

Sobald sich jeweils circa 10 ml der gespülten Flüssigkeit mit dem von den Sphären abgegebenen Chemotherapeutikum im Auffangbehälter gesammelt hatte, wurde nach bestimmten Zeitintervallen die Extinktion mittels Photometer gemessen. Die Messungen erfolgten nach Eichung und Kalibrierung des Photometers bei einer Wellenlänge von 470 nm.

Zu Beginn der Versuchsreihe wurden die Zeitintervalle in kurzen Abständen jede halbe Stunde und dann jede Stunde gewählt, so dass man eine genaue Vorstellung über die Menge des gespülten Chemotherapeutikums erhielt. Im Folgenden wurden die Abstände zwischen den Messungen immer mehr erweitert und gegen Ende wurde nur noch einmal pro Tag die Extinktion gemessen. Die 10 ml Flüssigkeit, von der jeweils die Extinktion bestimmt wurde, konnte nach der Messung noch nicht verworfen werden, sondern wurde in einem extra Behälter gesammelt, so dass zum Ende des Versuches die Gesamtextinktion bestimmt werden konnte. Die Beobachtung und Messung der Extinktionen wurde insgesamt für 16 Tage durchgeführt, um einen guten Überblick über den zeitlichen Verlauf der Menge an abgegebenem Therapeutikum zu erhalten. Dieser zeitliche Verlauf ist für den klinischen Alltag und die Wirksamkeit der transarteriellen Chemoembolisation von großer Bedeutung, da die Menge des abgegebenen Epirubicins in vitro mit der Menge des abgegebenen Epirubicins in der tumorversorgenden Arterie verglichen werden kann. Außerdem war



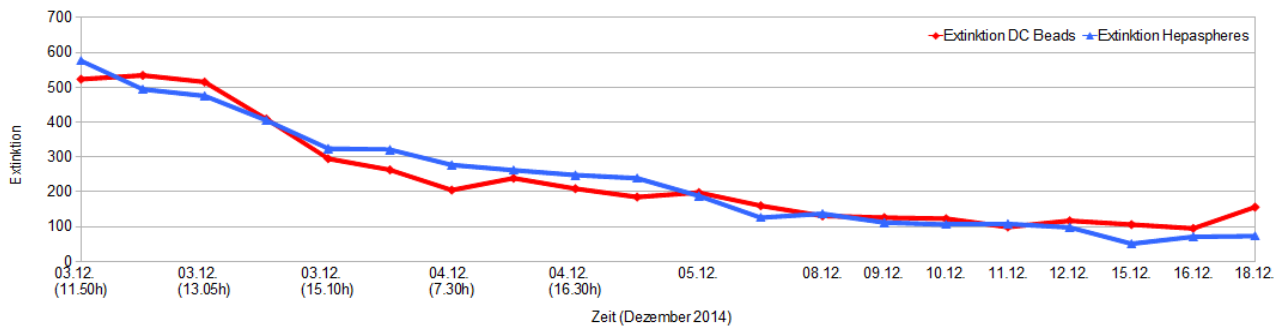
es wichtig zu beurteilen, ob überhaupt eine ausreichende Menge der zytotoxischen Substanz wieder aus den Microsphären ausgepült werden konnte, so dass im Bereich des Tumors ausreichend hohe Konzentrationen an Epirubicin vorhanden sind, um einen zytotoxischen Effekt nachweisen zu können. Allerdings ist es nicht direkt möglich aus den gemessenen Extinktionswerten auf die wirkliche Konzentration des Epirubicins im Bereich des Tumors zu schließen.

Die folgende Tabelle stellt die Versuchsergebnisse vom 03.12.2014 bis 18.12.2014 dar:

Messungen bei 470nm:

<b><u>Datum</u></b>	<b><u>Uhrzeit</u></b>	<b><u>Extinktion DC Beads</u></b>	<b><u>Extinktion HepaSpheres</u></b>
03.12.14	11.50h	523	576
	12.33h	534	494
	13.05h	515	475
	14.15h	409	405
	15.10h	295	324
	16.30h	263	321
04.12.14	7.30h	205	277
	11.30h	239	262
	16.30h	209	248
05.12.14	8.30h	185	239
	14.30h	198	188
	<b>Summe</b>	372	328
08.12.14	8.30h	160	126
	16.00h	131	137
09.12.14	13.30h	126	112
10.12.14		123	106
11.12.14		99	108
12.12.14		117	98
15.12.14		106	51
16.12.14		95	71
18.12.14		156	73

*Abbildung 45: Tabelle mit Vergleich der gemessene Extinktionen von Epirubicin aus den HepaSpheres und DCBeads*



*Abbildung 46: Graphische Darstellung der gemessenen Extinktionen der HepaSpheres (blau) und der DCBeads (rot)*

Zu Beginn der Messungen zeigte sich bei den HepaSpheres eine Extinktion von 576, die bereits nach knapp einer halben Stunde auf 494 gefallen war. Der hohe Ausgangswert lässt sich dadurch erklären, dass zu Beginn der Versuchsreihe sich außer den Microcarriern im Filter auch noch ein Rest der Epirubicinlösung, mit der die Microcarrier beladen wurden, befand. Beim Übertragen der Sphären von der Spritze, in welche die sechzigminütige Inkubationszeit stattfand, kam es zwangsläufig auch zu einem Übertragen von Epirubicin auf den Filter, da es unmöglich war, die Sphären isoliert zu entnehmen.

Somit lässt sich nachvollziehen, dass die zu Beginn der Versuchsreihe gemessenen Extinktionen noch falsch hoch sind. Man erkennt allerdings deutlich, dass die Werte am Ende des Tages nach ungefähr 4,5 Stunden bereits deutlich gefallen sind (auf 321). Die erste Phase der Entladung verläuft auch bei den DCBeads ähnlich, allerdings fallen die Werte zu Beginn der Messung nicht ganz so schnell ab wie bei den HepaSpheres, erreichen aber am Ende des Messtages einen Wert von 263, was darauf hindeutet, dass auch die Konzentration des Epirubicins in den DCBeads bereits niedriger sein muss als in den HepaSpheres, da sie das Zytostatikum also nicht so schnell abgeben wie die HepaSpheres. Am zweiten Versuchstag lässt sich bereits beobachten, dass die Extinktionswerte in beiden Vergleichsgruppen viel langsamer sinken als zu Beginn der Messungen und sich am Tagesende bei annähernd gleichen Werten einpendeln (209 DCBeads vs. 248 HepaSpheres). Nach drei Tagen unterschreiten die Werte erstmals einen Wert von unter 200, wobei sie sich immer noch weitgehend im gleichen Bereich bewegen (198 DCBeads vs. 188 HepaSpheres). Am Ende dieses Versuchstages erfolgte zusätzlich noch eine Messung der Gesamtextinktion der gesammelten Spülflüssigkeit der letzten drei Tage. Dies ergab folgendes Ergebnis:

372 bei den DCBeads und 328 bei den HepaSpheres. Diese Werte sind gut mit den errechneten Mittelwerten für die bis zu diesem Zeitpunkt gemessenen Extinktionen vereinbar. Als Rechenwerte ergeben sich folgende Ergebnisse: Mittelwert DCBeads: 325, HepaSpheres: 305

Bei der graphischen Auswertung ist zu beachten, dass es sich auf der x-Achse um eine nicht-lineare Darstellung handelt, da es nur so möglich ist, die größeren Extinktionswerte zu Beginn der Messreihe graphisch darzustellen und so auch mehrere Messungen an einem Tag im Diagramm aufzutragen.

Während der nächsten elf Messtage (an den Wochenenden wurden keine Messungen durchgeführt, allerdings erfolgte eine kontinuierliche Spülung der Sphären über 24 Stunden weiterhin) sanken die Werte weiter, bis die DCBeads schließlich am vorletzten Tag (16.12.14) mit 95 und die HepaSpheres am 15.12.14 mit 51 ihre niedrigsten Messwerte erreichten. Das mit 156 bei der letzten Extinktionsmessung ermittelte Ergebnis bei den DCBeads muss als Ausreißer betrachtet werden und lässt sich wahrscheinlich durch mechanische Manipulation am Filter, z.B durch Schütteln oder Erschütterungen bei Berührung, erklären.

Vergleicht man nun die beiden Sphären hinsichtlich des Elutionsverhaltens, lässt sich feststellen, dass bei beiden Sphären zu Beginn der Messreihe eine kontinuierliche Abgabe von Epirubicin erfolgte, die mit der Zeit immer weniger wurde, was sich an den ebenfalls fallenden Extinktionswerten erkennen lässt. Abgesehen von den ersten vier Messungen liegen die Extinktionswerte der HepaSpheres tendenziell etwas höher als die der DCBeads. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass schneller eine höhere Konzentration des Epirubicins ausgespült wurde. Nach ca. 48 Stunden unterschreiten die Extinktionswerte der DCBeads allerdings die der HepaSpheres, wenn auch nur gering. Dies lässt vermuten, dass die HepaSpheres vor allem zu Beginn der Therapie, also direkt nach der Applikation in die tumorversorgenden Arterien der Leber ihre größte Wirkung entfalten, da sie im Zeitintervall von 48h die höchste Dosis des Chemotherapeutikums freisetzen. Im Zeitraum vom 08.12.14 bis 12.12.14 pendelten sich die Werte auf einem relativ konstantem Niveau ein, mit ungefähren Extinktionsdifferenzen von +/-10 pro Tag. Es wird also über einen Zeitraum von fünf Tagen eine gleichmäßige, wenn auch relativ geringe Menge des Epirubicins im Bereich des Tumorgewebes appliziert. Nach weiteren 24h erfolgt nochmal ein größerer Sprung, mit einer Extinktionsdifferenz von 47 (von 98 auf 51). Der letzte ermittelte Messwert ergab eine Extinktion von 73 am Tag 16. Nach einer relativ konstanten Phase zeigte sich gegen Ende der Messungen also eine nochmalige höhere Epirubicinelution aus den HepaSpheres. Nach 16 Tagen konnten keine klinisch relevanten Extinktionsunterschiede mehr

gemessen werden, so dass wir die Versuchsreihe beendeten.

Es lässt sich also zusammenfassend feststellen, dass das Maximum der Zytostatikafreisetzung zu Beginn erfolgt, daraufhin schließt sich eine konstante Phase an, die von einer gleichmäßigen, kontinuierlichen Abgabe des Zytostatikums charakterisiert wird. Am Ende der Versuchsreihe pendelten sich die Messwerte auf einem konstanten Niveau ein, es wurden also nur noch geringe Mengen des Zytostatikums freigesetzt. Es lässt sich allerdings nicht ausschließen, dass nach Beendigung der Messungen noch eine weitere Elution stattgefunden hat, die sich letztendlich aber für uns im nicht mehr messbaren Extinktionsdifferenzbereich befand.

Zusätzlich zu den Untersuchungen der HepaSpheres, wurden die selben Versuche mit den DCBeads gemacht, da diese schon länger im klinischen Alltag eingesetzt werden.

Vergleichend lässt sich feststellen, dass die DCBeads zu Beginn der Messreihe sehr hohe Extinktionswerte aufwiesen, die sich aber noch innerhalb der ersten 24 Stunden halbierten. Es ist hier schwierig zu sagen, ob die ersten Messwerte als Artefakte zu werten sind durch einen zu hohen Anteil der Spüllösung auf dem Filter, oder ob es sich hierbei um die tatsächliche Kinetik der Sphären handelt. Falls dies der Fall wäre, ließe sich schlussfolgern, dass die DCBeads bereits innerhalb der ersten 24 Stunden einen Großteil des geladenen Chemotherapeutikums wieder freisetzen würden und so der Tumor sofort mit sehr hohen Dosen in Kontakt gebracht werden würde. Die nächsten 48 Stunden verlaufen wie bei den HepaSpheres relativ konstant, mit nur geringen Veränderungen in den gemessenen Extinktionswerten. Dies spricht ebenfalls für eine gleichmäßig konstante Applikation des Zytostatikums. Auffällig ist am sechsten Tag der Versuchsreihe eine erneute größere Extinktionsänderung von 160 auf 131 bei davor relativ konstanten Veränderungen. Die Kinetik betreffend verhalten sich die DCBeads recht ähnlich wie die HepaSpheres, die Extinktionsänderungen betragen zwischen den einzelnen Messungen relativ konstant auch etwa 10, dies spricht für eine gleichmäßige Entladung der Sphären. Lediglich die Ausgangs- und Endwerte der beiden Sphären unterscheiden sich etwas: Die bei den DCBeads gemessenen Werte liegen im Schnitt immer 20-30 Messwerte höher als bei den HepaSpheres. Folglich wird aus den DCBeads auch eine etwas höhere Konzentration des Epirubicins abgegeben.

Überträgt man diese Erkenntnisse nun in den klinischen Alltag lässt sich feststellen, dass die HepaSpheres für die transarterielle Chemoembolisation gut geeignet sind, da sie alle Voraussetzungen, die hinsichtlich der Kinetik und des Elutionsverhaltens an die Sphären gestellt werden, erfüllen. Betrachtet man den Beladungsvorgang, konnten keine Auffälligkeiten oder Schwierigkeiten festgestellt werden. Die Anleitung ließ sich problemlos auf Epirubicin übertragen.

Die Sphären nahmen das Chemotherapeutikum gut auf und vergrößerten sich von circa 153µm zu Beginn des Beladungsvorganges auf 230µm im Maximalen gemessenen Durchmesser nach der Inkubationszeit von einer Stunde. Auch konnte nicht beobachtet werden, dass die Sphären der Beladung nicht standhalten konnten. In den mikroskopischen Bildern konnten keine kaputten Microcarrier erkannt werden. Somit kann eine Beladung der Sphären mit Epirubicin sicher und mit einem äquivalenten Beladungsergebnis wie bei Doxorubicin beobachtet werden.

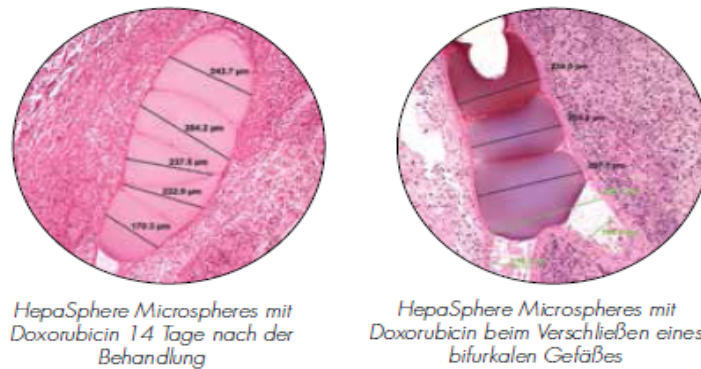
Hinsichtlich des Elutionsverhaltens der HepaSpheres konnte eine stets ausreichende Menge an abgegebenem Therapeutikum beobachtet werden, so dass man davon ausgehen kann, dass auch in vivo in der Leberarterie eine ausreichend hohe Konzentrationen erzielt werden kann, um eine Tumornekrose zu bewirken. Es wurde außerdem eine relativ konstante Elution nachgewiesen, was sich auch günstig auf die Wirksamkeit der Therapie auswirkt, da somit immer eine gewisse Konzentration des Chemotherapeutikums im Bereich des Tumors vorhanden ist. Gegen Ende wurden zwar relativ geringe Extinktionen gemessen, allerdings schließt das nicht aus, dass die Konzentration dennoch hoch genug ist, um ein Downstaging des Tumorgewebes zu erzielen. Auch nach Beendigung der Versuche muss davon ausgegangen werden, dass weiterhin Epirubicin abgegeben wurde, so dass nicht genau gesagt werden kann, wie lange die Elution der Microsphären anhält und ob die komplette geladene Dosis des Epirubicins auch im Bereich des Tumors abgegeben wird, oder ob stets ein Rest in den Sphären enthalten bleibt. Diese Vermutung kann durch die Tatsache verstärkt werden, dass die Sphären nach Beendigung der Versuche auf dem Filterpapier immer noch orange-rot erscheinen.

Da vom Hersteller zusätzlich zur Elution des Therapeutikums auch noch ein okkludierender Effekt im Bereich der tumorversorgenden Arterie belegt werden konnte, kristallisiert sich eine gute Möglichkeit der palliativen Anwendung der HepaSpheres bei HCC Patienten und metastasiertem kolorektalem Karzinom heraus, da einerseits eine konstante Freisetzung des Chemotherapeutikums und andererseits eine Unterbrechung der zum Tumor führenden Gefäße gewährleistet wird. Dieser additive Effekt führt somit zu einer höheren Tumornekroserate und einem längeren beschwerdefreien Überleben der Patienten.

Alles in allem lässt sich somit bestätigen, dass die HepaSpheres sehr gut für den klinischen Alltag zur transarteriellen Chemoembolisation geeignet sind.

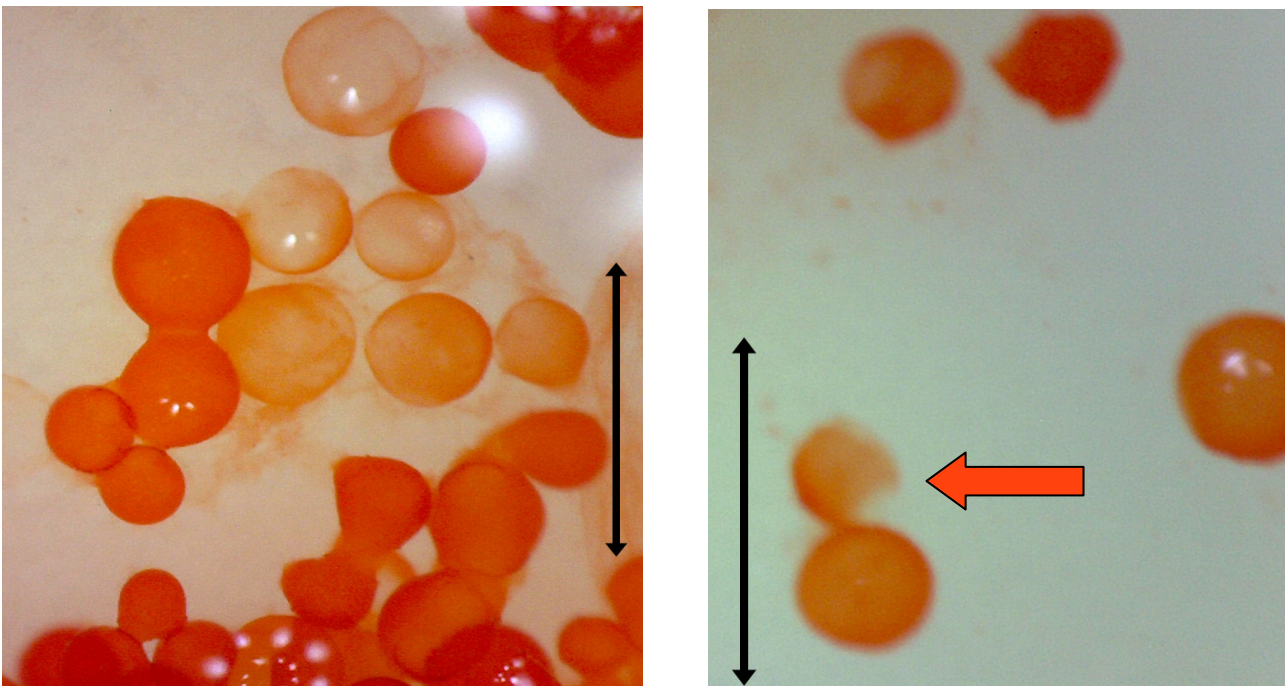
Interessant zu erforschen wäre außerdem folgende Fragestellung: Ist es möglich, die gemessenen Extinktionswerte in eine Dosiskurve umzurechnen, die die tatsächlich wirksame Dosis im Bereich des Tumors beschreibt? So könnten hinsichtlich der Tumornekroseraten präzisere Aussagen getroffen und auch weitere wichtige Informationen bezüglich der Kinetik der HepaSpheres gewonnen werden.

**Vollständigere Okklusion und hervorragendes Ergebnis bei der Medikamentenfreisetzung durch größere Kontaktfläche an der Intimaoberfläche und bessere Konformität<sup>2</sup>**



*Abbildung 47: Okklusion der tumorversorgenden Arterie durch die HepaSpheres*

4.3: Ergebnisse der mechanischen Belastbarkeit der mit Epirubicin beladenen Sphären



*Abbildungen 48 und 49: links: die HepaSpheres nach der Inkubationszeit von einer Stunde, rechts: nach mechanischer Manipulation (Vergrößerung 2).*

Die Pfeile markieren diejenigen Sphären, die der mechanischen Belastung nicht standhalten konnten und sich entweder verformten oder fragmentiert wurden. Allerdings sei hier erwähnt, dass nur ein sehr geringer Anteil der Sphären der Belastung nicht standhalten konnten, die meisten erlitten keinen Schaden und blieben in ihrer Form und Größe unverändert.

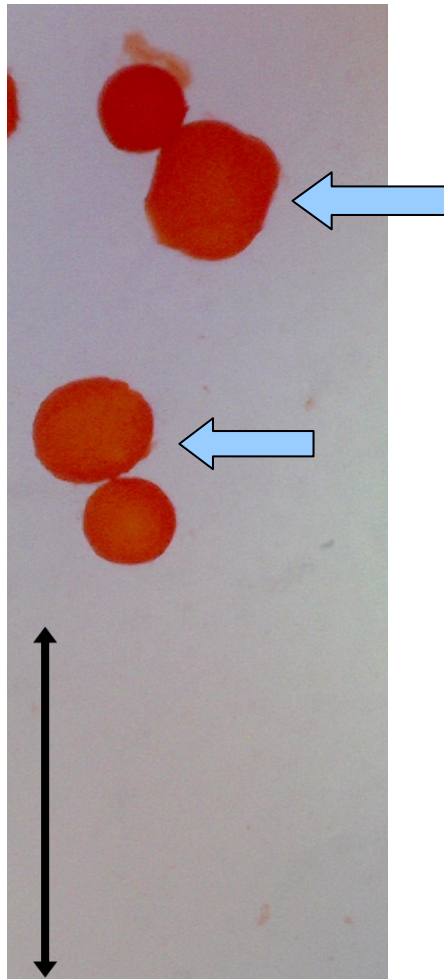
Natürlich kann dieser Versuch nicht die Katheterpassage selbst simulieren, allerdings wurden Erkenntnisse darüber gewonnen, dass die Sphären relativ stabil zu sein scheinen, so dass vermutet werden kann, dass auch bei der Katheterpassage nur vereinzelt Microcarrier kaputt gehen und dass die meisten das Interventionsziel unversehrt erreichen werden.

#### 4.4: Ergebnisse der osmotischen Resistenz der beladenen Sphären mit Leitungswasser

---

Analog zur mechanischen Belastung wurden die Sphären erneut mit Epirubicin (siehe Material und Methoden) beladen und nach der vorgeschriebenen Inkubationszeit von einer Stunde auf eine Glasplatte gespritzt. Mit Hilfe einer neuen Spritze wurden die Sphären mit Leitungswasser gespült und das Verhalten unter dem Mikroskop beobachtet.

Es konnten keine besonderen Auffälligkeiten im Formverhalten der Sphären festgehalten werden. Lediglich ein Bild lässt die Annahme vermuten, dass einige Microcarrier dem osmotischen Gradienten nicht standhalten konnten und kaputt gegangen sind. Deshalb ist anzunehmen, dass ein Kontakt mit Leitungswasser den Sphären prinzipiell keinen großen Schaden zufügt, allerdings soll darauf hingewiesen werden, dass laut Herstellerangaben trotzdem nur NaCl 0,9% verwendet werden sollte, um kein Risiko für den Behandlungserfolg einzugehen.



*Abbildung 50: Die Pfeile markieren zwei Sphären, bei denen eine Formveränderung nach Kontakt mit dem Leitungswasser nachgewiesen werden konnte.*

#### 4.5: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron

---

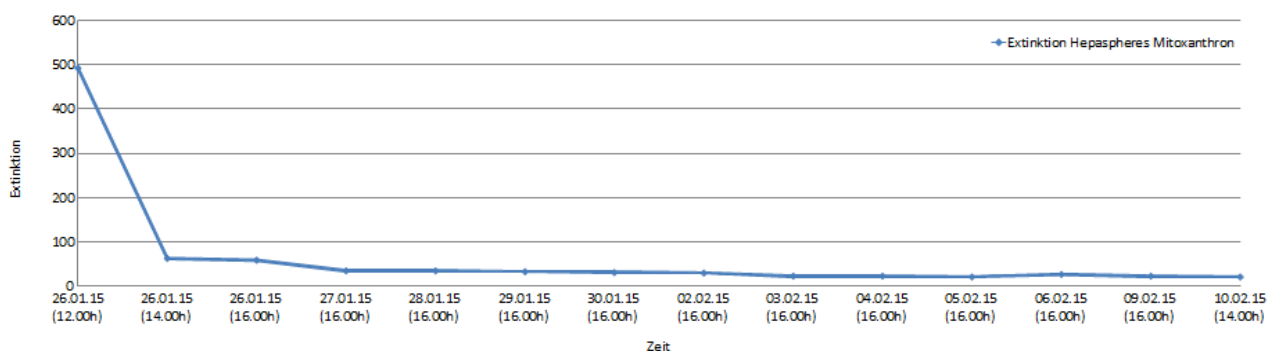
Die nachfolgende Tabelle stellt die gemessenen Extinktionswerte der mit Mitoxanthron beladenen HepaSpheres in Abhängigkeit der Zeit dar:

Die Messungen erfolgten nach Eichung und Kalibrierung des Photometers bei einer Wellenlänge von 660nm.



<u>Datum</u>	<u>Uhrzeit</u>	<u>Extinktion</u>
26.01.15	12.00h	493
	14.00h	62
	16.00h	58
27.01.15	16.00h	34
28.01.15	16.00h	34
29.01.15	16.00h	32
30.01.15	16.00h	30
02.02.15	16.00h	29
03.02.15	16.00h	22
04.02.15	16.00h	22
05.02.15	16.00h	20
06.02.15	15.00h	26
09.02.15	16.00h	22
10.02.15	14.00h	20

*Abbildung 51: Tabelle mit Vergleich der gemessenen Extinktionswerte für die Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron*



*Abbildung 52: graphische Darstellung der Extinktionswerte nach Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron*

Die mit Mitoxanthron beladenen HepaSpheres zeigen bereits bei der ersten Extinktionsmessung einen sehr hohen Wert von 493, das heißt, dass kurz nach der Beladung sofort ein großer Teil des Chemotherapeutikums wieder abgegeben bzw. ausgewaschen wird. Aus der Tabelle lässt sich ablesen, dass die Extinktion bereits nach zwei Stunden nur noch ungefähr 1/8 vom Ausgangswert

beträgt. Dies bedeutet, dass die HepaSpheres das Mitoxanthron sehr schnell abgeben haben und es nicht lange innerhalb der Sphären gespeichert bleibt. Dadurch ist eine kontinuierliche Abgabe über mehrere Wochen, wie z.B bei der Beladung mit Epirubicin, nicht möglich. Aus dem weiteren Verlauf der Extinktionskurve kann man erkennen, dass sich die Werte nach sechs Tagen auf einem konstantem Wert von ungefähr zwanzig Nanometer einpendeln. Im weiteren Beobachtungszeitraum ändern die Werte sich kaum noch. Ein minimaler Anstieg der Extinktionswerte lässt sich durch versehentliche Bewegungen am Filter erklären, da durch die zugeführten Bewegungen die Lösung wieder etwas mehr gemischt wird.

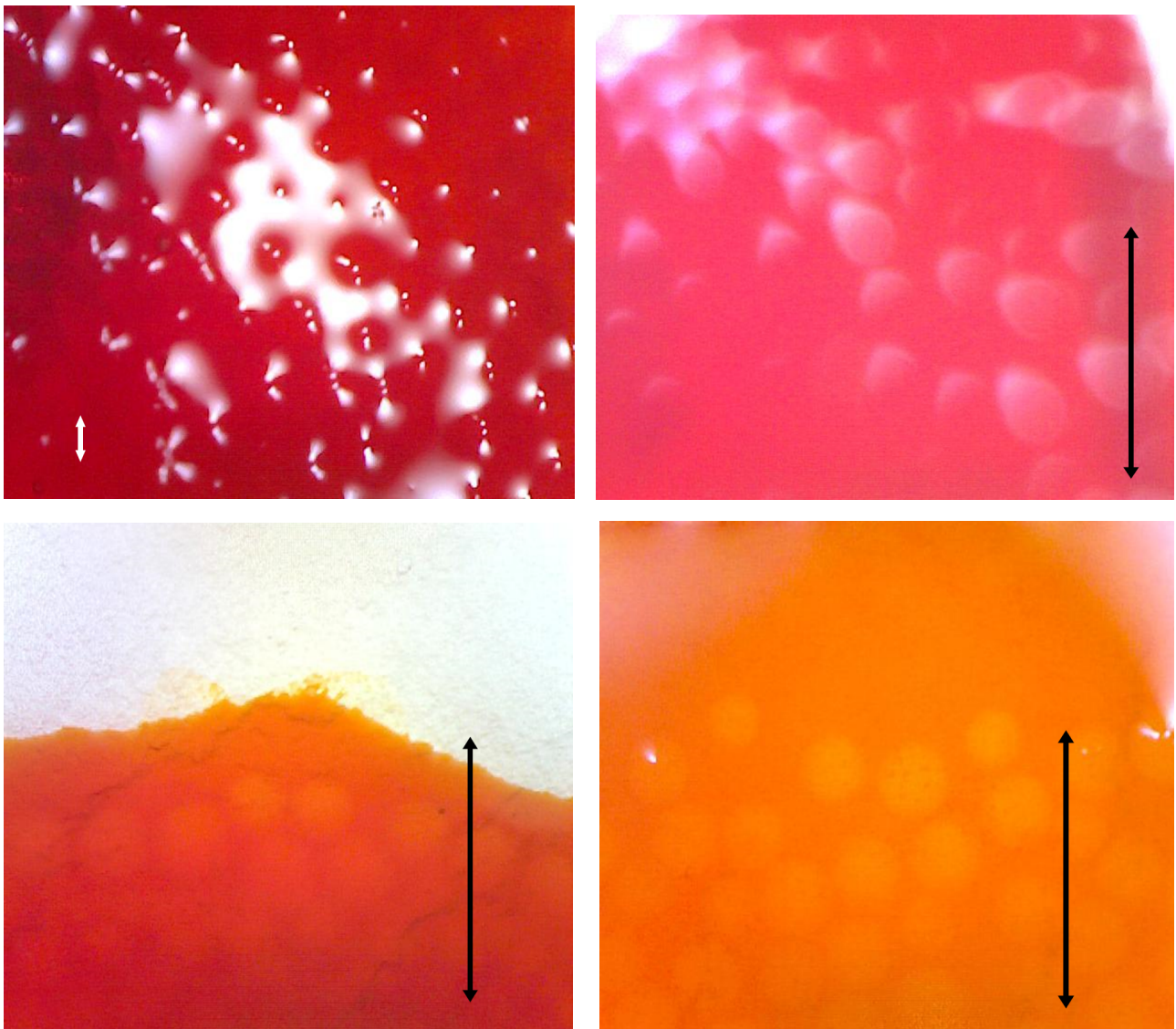
Zusammenfassend konnte ein gutes Beladungsergebnis der Hepaspheres mit Mitoxanthron beobachtet werden.

Allerdings war das Elutionsverhalten der Sphären hinsichtlich der geforderten Bedingung für den klinischen Alltag nicht zufriedenstellend, da durch die bereits frühe Abgabe großer Mengen des Chemotherapeutikums keine kontinuierliche Abgabe gewährleistet werden kann. Außerdem könnte es sein, dass die Elution sofort beginnt, wenn die Sphären in Kontakt mit der Kochsalzlösung geraten, wodurch eine Abgabe noch im Katheter nicht ausgeschlossen werden kann.

Im Vergleich zur Beladung der HepaSpheres und auch der DCBeads mit Epirubicin stellt die Beladung mit Mitoxanthron nach meiner Auffassung im Moment noch keine klinische Alternative zur Anwendung bei Patienten dar.

Im vorangegangenen Versuchsteil konnte bestätigt werden, dass die HepaSpheres sehr gut für die Beladung mit Epirubicin geeignet sind und so gut im klinischen Alltag für die transarterielle Chemoembolisation verwendet werden können.

Auf Grund des guten Nutzen-/Nebenwirkungsprofils und der schonenden Applikationsform der HepaSpheres stellt sich die Frage, inwiefern es möglich sein könnte, die HepaSpheres auch in anderen Bereichen im klinischen Alltag, abgesehen von der DEB-TACE bei HCC und metastasiertem kolorektalem Karzinom, einzusetzen.



*Abbildungen 53-56: Die Bilder zeigen von links oben nach rechts unten den Beladungsvorgang der HepaSpheres mit Rifampicin. (Vergrößerung 2).*

Bereits zu Beginn des Beladungsvorganges konnte beobachtet werden, dass sich eine geleeartige Masse bildet, die sehr zähflüssig erschien (s. Abb. 1). Im weiteren Verlauf kristallisierte sich heraus, dass die Sphären das Rifampicin nicht aufnehmen konnten, vielmehr schienen sie auf der geleeartigen Masse „zu schwimmen“ und blieben selbst völlig farblos (s Abb. 1-3).

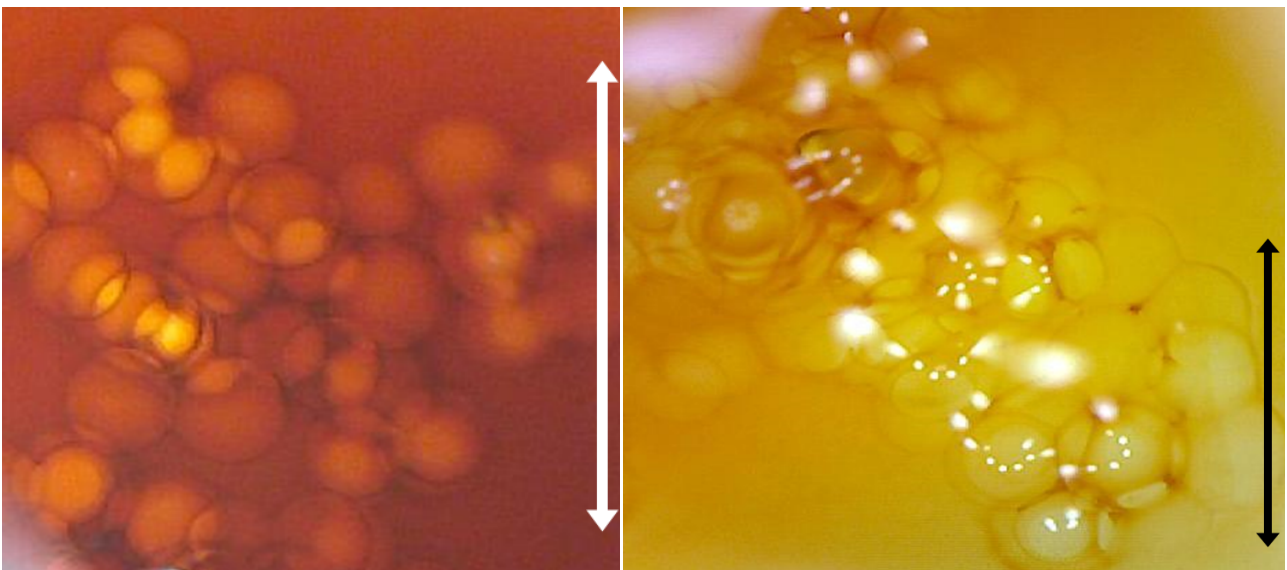
Auf den Mikroskopiebildern erkennt man die hellen, runden Punkte in der orange-roten

Rifampicinlösung. Die Sphären scheinen in ihrer Form und Größe unverändert, allerdings gelang auf keinem der Bilder ein positiver Nachweis einer Rifampicin Aufnahme in die Sphären. Somit kann angenommen werden, dass die Microcarrier für den Gebrauch einer lokalen Antibiotikatherapie mit Rifampicin nicht geeignet sind, da es nicht möglich ist, die Sphären mit dem Rifampicin zu beladen. Unter Umständen wäre es denkbar, die Sphären mit einem anderen Antibiotikum zu beladen, was hier allerdings nicht geprüft wurde. Dies wäre ein weiterer interessanter Forschungspunkt, allerdings soll dies nicht Gegenstand dieser Arbeit sein.

#### 4.7: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Ferritin (Ferrilect® 40mg)

---

Folgende Bilder konnten während und nach des Beladungsvorganges mit Ferritin aufgenommen werden:

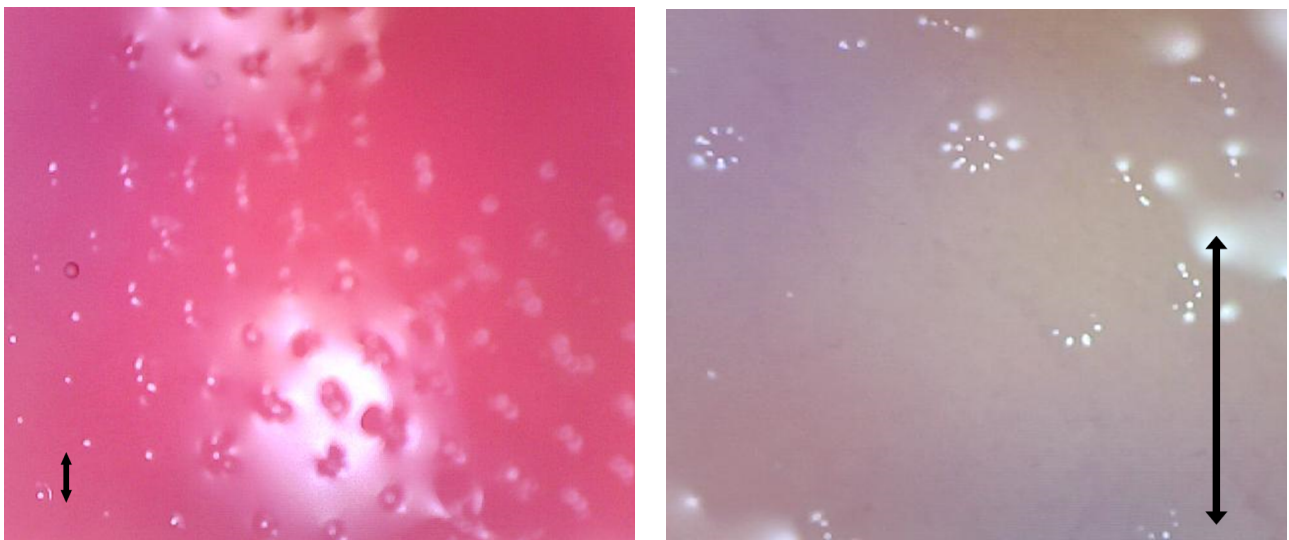


*Abbildungen 57-60: Die obere Abbildung zeigt die HepaSpheres direkt nach der Beladung. Die zwei unteren Abbildungen zeigen die HepaSpheres nach einer Inkubationszeit von ca. einer Stunde*

Zu Beginn des Beladungsvorgangs hoben sich die Sphären noch deutlich von der sie umgebenden dunkelroten Flüssigkeit (Ferritin) ab. Im Verlauf zeigte sich allerdings, dass die Farbintensität des Ferritins deutlich nachließ, was eine gewisse Aufnahme in die Microcarrier vermuten lässt.

Allerdings zeigt sich auch nach einer Stunde noch eine deutliche Gelbfärbung der Umgebung und im Vergleich dazu sich heller abhebende Sphären. Folglich ist es nicht gelungen, die HepaSpheres komplett mit dem Ferritin zu beladen, so dass nicht sicher gesagt werden kann, ob der beladene Anteil an Ferritin zu einer Substitutionstherapie bei gravierenden Eisenmangelzuständen ausreichend wäre. Es ist nicht auszuschließen, dass diese Form der Therapie Einsatz im klinischen Alltag finden könnte, allerdings müssen hinsichtlich dieser Fragestellung noch weitere wissenschaftliche Versuche unternommen werden.

#### 4.8: Ergebnisse der Beladung der HepaSpheres mit Vitamin B12 (Cyanocobalamin 100µg/ml)



*Abbildungen 61 und 62: Auf der linken Abbildung sind die Sphären unmittelbar nach der Beladung aufgenommen worden (Vergrößerung 1). Das rechte Bild zeigt die HepaSpheres nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten (Vergrößerung 2).*

Bei diesem Versuch kristallisierte sich bereits zu Beginn des Beladungsvorganges heraus, dass sich mit dem Zeitpunkt der Kontaktaufnahme zwischen den Sphären und dem Vitamin B12 eine geleeartige Masse bildete (s. Abb. 61). Dies deutet darauf hin, dass die HepaSpheres und das Vitamin vermutlich Komplexe bilden und sich so die Konsistenz der Sphären verändert. Nach einer Inkubationszeit von einer halben Stunde konnte zwar ein Unterschied der die Sphären umgebenden Flüssigkeit festgestellt werden, allerdings scheinen diese vielmehr auf der Vitaminlösung zu

schwimmen, als sie zu resorbieren. In Folge dessen muss leider davon ausgegangen werden, dass die Resorption des Vitamin B12 durch die Sphären nicht in ausreichender Form gewährleistet werden kann, so dass die HepaSpheres für dieses Einsatzgebiet im klinischen Alltag nicht geeignet sind.

Zusammenfassend zu den drei weiteren Versuchen lässt sich festhalten, dass ich momentan vor allem für Ferritin und Vitamin B12 noch keinen Einsatz der HepaSpheres im klinischen Alltag sehe. Auch der Beladungsvorgang der HepaSpheres mit Rifampicin ist leider nicht gelungen, wobei ich in diesem Versuch das größte Potential der HepaSpheres für eine zukünftige Verwendung in den Kliniken vermuten würde. Hierfür müssten allerdings die Aufnahmeeigenschaften der HepaSpheres dem Rifampicin bzw. auch anderen farblosen Antibiotika angepasst werden.

## **5. Diskussion**

---

Da es sich bei den Versuchen mit den HepaSpheres um Experimente handelt, können Messungenauigkeiten und Messfehler nicht ausgeschlossen werden. Die größten Ungenauigkeiten betreffen sicherlich die Entnahme der HepaSpheres nach der Beladung mit Hilfe der Spritze und das Übertragen auf den Filter, da hier nicht garantiert werden kann, dass stets alle Sphären übertragen werden konnten und keine Aussage über die genaue Anzahl der übertragenen Sphären gemacht werden kann. Außerdem muss angenommen werden, dass bei der Übertragung auf den Filter auch immer ein Teil der Zytostatikallösung auf den Filter gelangt ist, so dass die zu Beginn gemessenen Extinktionswerte vermutlich falsch hoch sind. Anfangs erfolgten die Extinktionsmessungen noch in kurzen Abständen, um eine genaue Kurve erstellen zu können, wurden allerdings im Verlauf auf einmal am Tag reduziert, da die größten Änderungen bereits kurz nach Anschließen an den simulierten Körperkreislauf geschahen. So kann natürlich nicht gewährleistet werden, signifikante Änderungen eventuell verpasst zu haben, allerdings kann man an Hand der relativ gleichmäßig verlaufenden Extinktionskurven auf die fehlenden Werte schließen. Weitere Messfehler können im Bereich der Messung selbst auftreten. Einerseits im Falle einer fälschlichen Messung durch das Gerät selbst, andererseits könnte es durch ungenaues Abfüllen in die Messkolben zu einer Verzerrung der Messwerte gekommen sein.

Nichts desto trotz wurde natürlich unter Einhaltung der nötigen Sicherheitsmaßnahmen im



Gebrauch mit zytotoxischen Substanzen stets auf eine sorgfältige Durchführung aller Arbeitsschritte geachtet, so dass die Messfehler möglichst gering gehalten werden konnten.

Eine weitere Überlegung im Bezug auf die Spülflüssigkeit wäre die Verwendung von einem dem Plasma angenähertem Medium gewesen, da bei elektrostatisch beladenen Mikropartikeln niedermolekulare Substanzen und Proteine einen großen Einfluss auf das Release Verhalten haben. Ebenso spielen die Porengröße und hydrophobe Interaktionen eine große Rolle beim Elutionsverhalten.

Anhand der oben beschriebenen Ergebnisse konnte gezeigt werden, dass sich die HepaSpheres sowohl für den Gebrauch mit Epirubicin als auch für den Gebrauch mit Mitoxanthron im klinischen Alltag bewähren konnten. Anhand der Extinktionskurven konnte bestätigt werden, dass bei beiden Chemotherapeutika eine ausreichende Menge des Zytostatikums im Bereich des Tumors abgegeben wird, so dass man annehmen kann, dass es im Bereich der tumorversorgenden Arterie sowohl durch den gefäßokkludierenden Effekt der Sphären als auch die lokal hohen Konzentrationen der Zytostatika ein synergistischer Effekt auf das Tumorwachstum im Sinne einer höheren Tumorzellnekrose erreicht werden kann. Leider lässt sich an Hand der gemessenen Extinktionswerte nicht direkt auf die lokale Konzentration des Zytostatikums im Bereich des Tumors schließen, so dass es nicht möglich war, eine genaue Einschätzung über die Tumornekroserate zu treffen.

Im Vergleich mit den DC-Beads konnten sich keine relevanten Unterschiede bezüglich der gemessenen Extinktionswerte bestimmen lassen, so dass im Endeffekt jeder Untersucher selbst entscheiden muss, für welche Sphären er sich bei der Behandlung seiner Patienten entscheidet.

Momentan ist dieses Therapieverfahren für den Patienten schonender als einer konventionelle Chemotherapie, da die allgemein bekannten Nebenwirkungen einer solchen Behandlung fast komplett ausbleiben, weshalb sich viele Patienten zum down-staging für diese Therapieform entscheiden.

Allerdings bietet eine DEB-TACE Behandlung nicht nur Vorteile: Da es sich um ein relativ neues Therapiekonzept handelt, ist es im Vergleich zu einer konventionellen Chemotherapie natürlich wesentlich teuer, was mitunter an den hohen Materialkosten der Sphären liegt. Außerdem ist bei jeder Therapiesitzung ein minimal-invasiver Eingriff unter Röntgenkontrolle mit anschließender stationärer Überwachung nötig. Als wichtigste Nebenwirkung einer DEB-TACE Behandlung wird das Post-Embolisationssyndrom genannt, das zwar selten auftritt, für den betroffenen Patienten allerdings lebensbedrohlich sein kann.

Nicht desto trotz sehe ich in diesem Therapieverfahren einen großen Fortschritt in der modernen Tumorthherapie vor allem für HCC- Patienten, da es sich doch um einen relativ kleinen Eingriff handelt, der bei einem geübten Operateur meist nur wenige Minuten dauert. Den meisten Patienten geht es nach diesem Eingriff relativ schnell wieder gut, so dass sie die Klinik bald verlassen können, was viel zu einer guten Lebensqualität beiträgt.

Leider konnte ich in meinen weiteren Versuchen und Überlegungen momentan noch kein weiteres Einsatzgebiet für die HepaSpheres aufzeigen, da die Ergebnisse der Beladung mit Rifampicin, Ferritin und Vitamin B12 leider nicht wie erhofft funktioniert haben und sich die Sphären mit dem getesteten Medium nicht ausreichend beladen ließen. Am ehesten erscheint mir ein weiterer Gebrauch der Sphäre mit Ferritin wahrscheinlich und auch im klinischen Alltag erfolgsversprechend, da zumindest eine Teilbeladung nachgewiesen werden konnte. Allerdings müssten hierfür die Materialeigenschaften der HepaSpheres dahingehend angepasst werden, dass eine komplette Beladung möglich wäre. Bei den Versuchen mit Vitamin B 12 ist physikalisch betrachtet aufgrund der fehlenden positiven Ladung des Cobalamins keine Interaktion zwischen den Harz der polyanionischen Microcarrier und dem Cobalamin möglich, da sich die negative Ladung des Phosphats und die positive Ladung des Cobalts gegenseitig aufheben und Cobalamin somit keine positive Ladung besitzt. Momentan scheinen die Materialeigenschaften der Sphären nur für den Gebrauch mit den oben genannten Zytostatika geeignet zu sein.

## **6. Zusammenfassung**

---

Ziel der Arbeit waren umfassende Untersuchungen zum Be- und Entladevorgang der HepaSpheres von MeritMedical, wobei das größte Augenmerk dem Elutionsverhalten der Sphären gewidmet wurde.

Ihren Einsatzbereich finden die HepaSpheres vor allem bei der DEB-TACE bei primärem HCC oder metastasiertem Kolonkarzinom in palliativer Absicht. Hierfür werden die Sphären mit dem entsprechenden Chemotherapeutikum beladen und dem Patienten über die Arteria hepatica durch einen Katheter bis in die tumorversorgenden Gefäße gespritzt: Diese Art der Therapie hat somit zwei Effekte, einerseits kommt es durch die Applikation der Microcarrier im Bereich der tumorversorgenden Gefäße zu einer Okklusion und somit zu einer Devaskularisation des Tumors. Der zweite Effekt ist eine hohe lokoregionäre Konzentration des Zytostatikums im Bereich des



Tumors oder der Metastasen durch die direkte Applikation unter Umgehung des Körperkreislaufs, so dass dieses Verfahren für den Patienten weitaus schonender ist, als eine klassische Chemotherapie. Die Sitzungen finden im entsprechenden Krankenhaus in Lokalanästhesie in vierwöchigen Abständen statt, so dass die Patienten meist am selben Tag noch nach Hause entlassen werden können.

Für meine Versuche wurden die Sphären zunächst in variablen Vorversuchen mit handelsüblicher königsblauer Tinte und Methylenblau beladen, um so ein erstes Verständnis für die Kinetik der Kügelchen zu erlangen. Betrachtet wurden die Sphären jeweils unter dem Mikroskop, wobei gleichzeitig Bilder in verschiedenen Phasen des Beladungsvorgangs gemacht wurden, um mögliche Form- und Konsistenzveränderungen der Kügelchen dokumentieren zu können.

Des weiteren wurden die Sphären dann mit Epirubicin laut Herstellerangaben beladen und nach einer Inkubationszeit von 60 Minuten auf einen Filter gespritzt und an einen simulierten Körperkreislauf angeschlossen, so dass bei 37°C eine kontinuierliche Spülung der Sphären stattfinden konnte. Währenddessen wurden in definierten Zeitabständen jeweils Proben aus der gespülten Flüssigkeit entnommen und daraus die Extinktionen gemessen, so dass eine Extinktionskurve in Abhängigkeit von der Zeit erstellt werden konnte. Um einen besseren Vergleich zu haben, wurde die selbe Messung auch mit Epirubin beladenen DC-Beads Kügelchen eines anderen Herstellers durchgeführt und ebenfalls die Extinktionen gemessen.

Die ermittelten Ergebnisse für die zwei verschiedenen Sphären differierten im wesentlichen nur wenig:

Bei den DC Beads ließen sich bereits zu Beginn der Messungen relativ hohe und schnell fallende Extinktionswerte bestimmen, was für eine schnelle Abgabe direkt nach der Applikation in die tumorversorgende Arterie spricht. Bei den HepaSpheres blieb dieser erste Peak aus, die Abgabe erfolgte kontinuierlicher.

Bereits nach fünf Tagen pendeln sich die Werte der beiden Carrier in einem Extinktionsbereich von +/- 100 ein und unterliegen in den folgenden Tagen nur noch leichten Schwankungen. Somit muss davon ausgegangen werden, dass nicht die komplette Menge des Epirubicins aus den Carriern ausgewaschen werden konnte und stets ein Rest in den Sphären verbleibt. Nichts desto trotz stellen die gemessenen Werte ein zufriedenstellendes Ergebnis dar mit der Schlussfolgerung, dass sowohl die DC-Beads als auch die HepaSpheres sehr gut im klinischen Alltag als palliativer Ansatz bei der DEB-TACE eingesetzt werden können, da ausreichend hohe Zytostatikakonzentrationen im Bereich

des Tumors erreicht werden können.

Nun stellte sich die Frage, ob es möglich sei, das Einsatzgebiet der HepaSpheres über deren bereits erforschten Einsatz in der DEB-TACE zu erweitern.

Als Aufgabe galt es farbige Testsubstanzen zu finden, mit denen man die HepaSpheres sinnvollerweise beladen könnte. Hierfür wurden Rifampicin, Ferritin und Vitamin B12 verwendet. Für alle drei Testsubstanzen wäre eine sinnvolle klinische Indikation gegeben, womit der Einsatzbereich der HepaSpheres enorm erweitert werden könnte.

Die Beladung erfolgte analog zur Beladung mit Epirubicin. Nach der angegebenen Einwirkdauer von ungefähr 60 Minuten, wurden die Kügelchen unter dem Mikroskop hinsichtlich ihrer Beladung betrachtet.

Allerdings konnte bei keinem der drei Testsubstanzen eine positive Aufnahme in die HepaSpheres nachgewiesen werden, so dass davon ausgegangen werden muss, dass diese für einen anderweitigen Gebrauch leider nicht geeignet sind.

## 7. Abbildungsverzeichnis

---

### Abbildung 1:

[http://www.hopkinsmedicine.org/sebin/v/r/Hepatic\\_Artery\\_Chemoembolization.jpg](http://www.hopkinsmedicine.org/sebin/v/r/Hepatic_Artery_Chemoembolization.jpg)

### Abbildung 2:

[http://www.siloah.de/img/siloah/kliniken/radiologie/interventionelle\\_radiologie/tumor\\_emb03.jpg](http://www.siloah.de/img/siloah/kliniken/radiologie/interventionelle_radiologie/tumor_emb03.jpg)

### Abbildung 3:

Parkin DM, Bray F, Ferlay J et al. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;**55**:74–108, with permission from John Wiley & Sons.

[http://theoncologist.alphamedpress.org/content/15/suppl\\_4/5/F1.large.jpg](http://theoncologist.alphamedpress.org/content/15/suppl_4/5/F1.large.jpg)

### Abbildung 4:

[http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/base\\_C22\\_\\_G.pdf](http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/base_C22__G.pdf)

### Abbildung 5:

[http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/032-053OL1\\_S3\\_Hepatozellul  
%C3%A4res\\_Karzinom\\_Diagnostik\\_Therapie\\_2013-05.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-053OL1_S3_Hepatozellul%C3%A4res_Karzinom_Diagnostik_Therapie_2013-05.pdf) (p.60)

### Abbildung 6:

[http://bestpractice.bmj.com/best-practice/images/bp/en-gb/278-3-iline\\_default.gif](http://bestpractice.bmj.com/best-practice/images/bp/en-gb/278-3-iline_default.gif)

### Abbildung 7:

<http://www.current-oncology.com/index.php/oncology/article/viewFile/952/762/6601>

### Abbildung 8:

[http://www.spandidos-publications.com/article\\_images/mco/2/2/MCO-02-02-0203-g00.jpg](http://www.spandidos-publications.com/article_images/mco/2/2/MCO-02-02-0203-g00.jpg)

### Abbildung 9:

[http://www.tumorregister-muenchen.de/literature/2008\\_Metastasierung-kolorektalen-  
Karzinom.pdf#page=8&zoom=80,-336,792](http://www.tumorregister-muenchen.de/literature/2008_Metastasierung-kolorektalen-Karzinom.pdf#page=8&zoom=80,-336,792)

Abbildung 10:

[http://www.tumorregister-muenchen.de/literature/2008\\_Metastasierung-kolorektalen-Karzinom.pdf#page=8&zoom=80,-336,792](http://www.tumorregister-muenchen.de/literature/2008_Metastasierung-kolorektalen-Karzinom.pdf#page=8&zoom=80,-336,792)

Abbildung 11:

Nicola Lawrence, Victoria Hinder, Melissa Murray, Jerome Macapagal, Paul Thompson, Katrina Sharples and Michael Findlay. Transient elevation in serum carcinoembryonic antigen while on adjuvant chemotherapy for colon cancer: Is this of prognostic importance?. Asia Pac J Clin Oncol. 2015 Aug 6. doi: 10.1111/ajco.12402. (p.6)

Abbildung 12:

Gabriella Guerrero, Geetika Arora, Govindarajan Narayanan, Katuzka Barbary, Rekha Suthar. Transarterial Chemoembolization Using DEBIRI for Treatment of Hepatic Metastases from Colorectal Cancer. Anticancer Res. 2013 May;33(5):2077-83. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jvir.2013.01.030>

Abbildung 13:

Varela et al. J Hepat 2007 Mar; Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. 46(3):474-81. Epub 2006 Nov 29; DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2006.10.020>

Abbildung 14:

<http://www.saint-kongress.de/2009/SAINT2009t2v17%20-%20Neue%20Embolisationsmaterialien%20-%20Beads%20&%20Co.pdf> (p.10)

Abbildung 15:

[http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816794/bin/270\\_2009\\_9711\\_Fig3\\_HTML.jpg](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816794/bin/270_2009_9711_Fig3_HTML.jpg)

Abbildung 16:

Draht: ev 3™ NITREX™. 0.018“x 80cm, Durchmesser 0,46mm, REF: N180802, LOT: 10380716 (ev3 Endovascular, Inc.) mit der Referenzgerade von 460µm

Abbildung 17:

Draht: ev 3™ NITREX™. 0.018“x 80cm, Durchmesser 0,46mm, REF: N180802, LOT: 10380716 (ev3 Endovascular, Inc.) mit der Referenzgerade von 460µm

Abbildung 18:

Maßstab

Abbildung 19:

Versuchsaufbau für den Versuch der Elution von Epirubicin der Hepaspheres (rechtes System) und der DCBeads (linkes System)

Abbildung 20:

500ml 0,9% NaCl als Spülflüssigkeit

Abbildung 21:

Messregler zur Einstellung der Flussgeschwindigkeit in ml/h

Abbildung 22:

Auffangbehälter für die mit NaCl gespülten Microcarrier

Abbildung 23:

Microcarrier auf Intrapur®Lipid (1,2µm BRAUN) Filter

Abbildung 24:

Microcarrier auf Intrapur®Lipid (1,2µm BRAUN) Filter

Abbildung 25:

native Hepaspheres® 30-60µm im trockenen Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical)

Abbildung 26:

[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/32/Epirubicin.svg/300px-](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/3/32/Epirubicin.svg/300px-Epirubicin.svg.png)

Epirubicin.svg.png

Abbildung 27:

Anleitung zur Beladung der HepaSpheres

©2012 Merit Medical Systems, Inc. Alle Rechte vorbehalten. MR11-120DE Rev.

Abbildung 28:

©2012 Merit Medical Systems, Inc. Alle Rechte vorbehalten. MR11-120DE Rev.

Abbildung 29:

Ningning Zhao and Caroline A. Enns. Iron Transport Machinery of Human Cells: Players and Their Interactions. Curr Top Mebr. 2012;**69**:67-93. doi: 10.1016/B978-0-12-394390-3.00003-3.

(Fig. 2)

Abbildung 30:

HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical) gefärbt mit königsblauer Tinte Pelikan 4001 TP6

Abbildung 31:

HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical) gefärbt mit königsblauer Tinte Pelikan 4001 TP6

Abbildung 32:

Hepaspheres nach der Färbung mit königsblauer Tinte

Abbildung 33:

Hepaspheres nach der Färbung mit königsblauer Tinte mit verformter Sphäre

Abbildung 34:

entfärbte Microcarrier nach dem Spülvorgang

Abbildung 35:

entfärbte Microcarrier nach dem Spülvorgang

Abbildung 36:

HepaSpheres ® (120-240µm im ausgedehnten Zustand) gefärbt mit Methylenblau.

Abbildung 37:

HepaSpheres® (120-240µm im ausgedehnten Zustand) entfärbt nach dem Spülvorgang mit NaCl 0,9%

Abbildungen 38-40:

HepaSpheres® 30-60µm im trockenen Zustand, 120-240µm im ausgedehnten Zustand, REF: V225HS, LOT: 036LH1 (BioSphere Medical) vor dem Versuch, in destilliertem Wasser und in geplatzttem Zustand.

Abbildungen 41-44:

Beladungsvorgang der HepaSpheres mit Epirubicin nach einer, sieben, zwanzig und sechzig Minuten

Abbildung 45:

Tabelle mit Vergleich der gemessene Extinktionen von Epirubicin aus den HepaSpheres und DCBeads

Abbildung 46:

Graphische Darstellung der gemessenen Extinktionen der HepaSpheres (blau) und der DCBeads (rot)

Abbildung 47:

Okklusion der tumorversorgenden Arterie durch die HepaSphere Microspheres

Abbildung 48:

HepaSpheres nach der Inkubationszeit von einer Stunde

Abbildung 49:

HepaSpheres nach mechanischer Manipulation

Abbildung 50:

Formveränderte Sphären nach dem Kontakt mit Leitungswasser

Abbildung 51:

Tabelle mit Vergleich der gemessenen Extinktionswerte für die Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron

Abbildung 52:

Graphische Darstellung der Extinktionswerte nach Beladung der HepaSpheres mit Mitoxanthron

Abbildungen 53-56:

Beladungsvorgang der HepaSphere Microspheres mit Rifampicin

Abbildungen 57-60:

HepaSpheres bei der Beladung mit Ferritin

Abbildungen 61 und 62:

HepaSpheres bei der Beladung mit Vitamin B12

**Abkürzungsverzeichnis**

TACE: transarterielle Chemoembolisation

HCC: hepatozelluläres Karzinom

CCC: cholangiocelluläres Karzinom

GIST- Tumor: gastrointestinaler Stromatumor

LDH: Laktat Dehydrogenase

TIPS: transjugulärer intrahepatischer portosystemischer (Stent-) Shunt

CT: Computertomografie

HBV- DNA: Hepatitis B Virus Desoxyribonukleinsäure

NAFLD: nonalcoholic fatty liver disease

BCLC: Barcelona-Clinic-Liver-Cancer-Staging-System

FOLFOX: 5-FU, Leucovorin, Oxaliplatin

FOLFOXIRI: 5-FU, Leucovorin, Oxaliplatin, Irinotecan

DEB-TACE: Drug-eluting Bead TACE

MRT: Magnetresonanztomografie

CEA: Serum carcinoembryonic antigen

cTACE: konventionelle TACE

SAE: serious adverse events





# **<sup>1</sup>Literaturverzeichnis**

Untersuchungen an Microcarriern zum Transport von Chemotherapeutika durch das arterielle System<sup>1</sup>Eustachi A, Pajtler H, Linde K, Melchart D, Weidenhammer W. Patients of an interdisciplinary cancer treatment center: use of, knowledge about, and demand for CAM treatment options. *Integr Cancer Ther.* 2009 Mar; **8**(1):56-62.

doi: 10.1177/1534735408327996. Epub 2009 Jan 15.

<sup>2</sup> Schlag P, Responsibilities and importance of tumor centers for interdisciplinary tumor therapy, *Langenbecks Arch Chir Suppl II Verh Dtsch Ges Chir* 1990: 47-53, PMID:1983593

<sup>3</sup> Andreas H Mahnken, Prof. Dr. med., Philipp Bruners, Dr. med., and Rolf W Günther, Prof. Dr. med., Techniques of Interventional Tumor Therapy, *Deutsches Ärzteblatt Int.* 2008 Sep; **105**(38): 646–653.

Published online 2008 Sep 19. doi:0.3238/arztebl.2008.0646PMCID: PMC2680576

<sup>4</sup> [http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Institut-fuer-Klinische-](http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Institut-fuer-Klinische-Radiologie/de/patienteninformationen/intervention/behandlung_von_lebertumoren/tace/index.html)

[Radiologie/de/patienteninformationen/intervention/behandlung\\_von\\_lebertumoren/tace/index.html](http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Institut-fuer-Klinische-Radiologie/de/patienteninformationen/intervention/behandlung_von_lebertumoren/tace/index.html)

Yi-Xiáng J. Wáng, Thierry De Baere, Jean-Marc Idée and Sébastien Ballet, Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences, *Chin J Cancer Res.* 2015 Apr; **27**(2): 96–121. doi:10.3978/j.issn.1000-9604.2015.03.03, PMCID: PMC4409973

<sup>5</sup> Yi-Xiáng J. Wáng, Thierry De Baere, Jean-Marc Idée and Sébastien Ballet, Transcatheter embolization therapy in liver cancer: an update of clinical evidences, *Chin J Cancer Res.* 2015 Apr; **27**(2): 96–121.

doi:10.3978/j.issn.1000-9604.2015.03.03, PMCID: PMC4409973

<sup>6</sup> Goldstein HM, Wallace S, Anderson JH, Bree RL, Gianturco C. Transcatheter occlusion of abdominal tumors. *Radiology* 1976; 120:539- 545

<sup>7</sup> Rohan Chaminda Siriwardana, Madunil Anuk Niriella, Anuradha Supun Dassanayake, Chandika Anuradha Habarakada Liyanage, Angappulige Upasena, Chandra Sirigampala and Hithanadura Janaka de Silva. Factors affecting post-embolization fever and liver failure after trans-arterial chemo-embolization in a cohort without background infective hepatitis- a prospective analysis. *BMC Gastroenterology* 2015, **15**:96 doi:10.1186/s12876-015-0329-8

<sup>8</sup> Vogl TJ, Zangos S, Balzer JO, Nabil M, Rao P, Eichler K, Bechstein WO, Zeuzem S, Abdelkader A., Transarterial chemoembolization (TACE) in hepatocellular carcinoma: technique, indication and results, *Rofo.* 2007 Nov; **179**(11):1113-26. DOI: 10.1055/s-2007-963285

<sup>9</sup> Majno, P.E., et al. Influence of preoperative transarterial lipiodol chemoembolization on resection and transplantation for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Ann Surg.* 1997. **226**(6): p. 688-701; discussion 701-3, PMCID: PMC1191140

<sup>10</sup> Peng Wang, Lili Sheng, Guoxiang Wang, Heping Wang, Xinyu Huang, Xiaoxing Yan, Xiaohua Yang, Renguang Pei. Association of transarterial chemoembolization with survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Molecular and Clinical Oncology* 07.01.2014 **2**(2):203- 206, doi: 10.3892/mco.2014.239

<sup>11</sup> [http://radiologie-uni-frankfurt.de/content/e6796/e13478/e13479/e13706/index\\_ger.html](http://radiologie-uni-frankfurt.de/content/e6796/e13478/e13479/e13706/index_ger.html)

<http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Institut-fuer-Klinische>

[Radiologie/de/patienteninformationen/intervention/behandlung\\_von\\_lebertumoren/tace/index.html](http://www.klinikum.uni-muenchen.de/Institut-fuer-Klinische-Radiologie/de/patienteninformationen/intervention/behandlung_von_lebertumoren/tace/index.html)

[http://radiologie.uniklinikum-leipzig.de/radiologie.site/postext,tumorbehandlung,a\\_id,594.html](http://radiologie.uniklinikum-leipzig.de/radiologie.site/postext,tumorbehandlung,a_id,594.html)

<sup>12</sup> Goldstein HM, Wallace S, Anderson JH, Bree RL, Gianturco C. Transcatheter occlusion of abdominal tumors. *Radiology* 1976; 120:539- 545.

<sup>13</sup> Magdalena Jarząbek, Tomasz Jargiełło, Andrzej Wolski, Paweł Poluha, Małgorzata Szczerbo-Trojanowska. Drug-eluting microspheres transarterial chemoembolization (DEM TACE) in patients with liver metastases. Pilot study. *Pol J Radiol*, 2011;

76(3): 26-32. Department of Interventional Radiology and Neuroradiology, Medical University in Lublin, Lublin, Poland

<sup>14</sup> Niti Manglik, MD, Palam Annamalai, MD, and Ranjana S Nawgiri, MD. Drug eluting beads on cytology smears. *Cytojournal*. 2012; 9:23. Published online 2012 Oct 23. DOI:10.4103/1742-6413.102866 PMID: PMC3513829

<sup>15</sup> Majno PE, Adam R, Bismuth H, Castaing D, Ariche A, Krissat J, Perrin H, Azoulay D. Influence of preoperative transarterial lipiodol chemoembolization on resection and transplantation for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Annals of Surgery*. 1997; Vol **226**; No 6:688–701; discussion 701-3 PMID1191140 ©Lippincott-Raven Publisher

<sup>16</sup> Michael Schultheiß, Lars Maruschke. Transarterielle Chemoembolisation (TACE); How to do: transarterial chemoembolization (TACE). © Georg Thieme Verlag KG StuttgartNewYork

<sup>17</sup> Thomas J. Vogl, MD, Tatjana Gruber, MD, Jörn O. Balzer, MD, Katrin Eichler, MD, Renate Hammerstingl, MD, and Stefan Zangos, MD Original Research. *Vascular and Interventional Radiology*. Repeated Transarterial Chemoembolization in the Treatment of Liver Metastases of Colorectal Cancer: Prospective Study. January 2009. Volume 250, Issue 1

DOI: <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2501080295>

<sup>18</sup> Robert J. Lewandowski, MD, Jean-Francois Geschwind, MD, Eleni Liapi, MD, and Riad Salem, MD, MBA. Transcatheter Intraarterial Therapies: Rationale and Overview. *Radiology*. 2011 Jun; **259**(3): 641–657. Published online 2011 Jun. DOI:10.1148/radiol.11081489; PMID: PMC3400295

<sup>19</sup> Thomas J. Vogl, MD, Tatjana Gruber, MD, Jörn O. Balzer, MD, Katrin Eichler, MD, Renate Hammerstingl, MD, and Stefan Zangos, MD Original Research. *Vascular and Interventional Radiology*. Repeated Transarterial Chemoembolization in the Treatment of Liver Metastases of Colorectal Cancer: Prospective Study. January 2009. Volume 250, Issue 1

DOI: <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.2501080295>

<sup>20</sup> Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous A new technique. *Acl Radiol* 1953; **39**:368-376.

<sup>21</sup> Thomas J. Vogl, MD, Michael Trapp, MD, Henrik Schroeder, MD, Martin Mack, MD, Adrian Schuster, MD, Jan Schmitt, MD, Peter Neuhaus, MD, and Roland Felix, MD. Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma: Volumetric and Morphologic CT Criteria for Assessment of Prognosis and Therapeutic Success—Results from a Liver Transplantation Center. February 2000. Volume 214, Issue 2 DOI: <http://dx.doi.org/10.1148/radiology.214.2.r00fe06349>

<sup>22</sup> Rohan Chaminda Siriwardana, Madunil Anuk Niriella, Anuradha Supun Dassanayake, Chandika Anuradha Habarakada Liyanage, Angappulige Upasena, Chandra Sirigampala and Hithanadura Janaka de Silva. Factors affecting post-embolization fever and liver failure after trans-arterial chemo-embolization in a cohort without background infective hepatitis- a prospective analysis. *BMC Gastroenterology* 2015, **15**:96 doi:10.1186/s12876-015-0329-8

<sup>23</sup> Antonio Facciorusso, Raffaele Licinio, Nicola Muscatiello, Alfredo Di Leo, and Michele Barone. Transarterial chemoembolization: Evidences from the literature and applications in hepatocellular carcinoma patients. *World J Hepatol*. 2015 Aug 8; 7(16): 2009–2019. Published online 2015 Aug 8. DOI:10.4254/wjh.v7.i16.2009 PMID: PMC4528274

<sup>24</sup> Rohan Chaminda Siriwardana, Madunil Anuk Niriella, Anuradha Supun Dassanayake, Chandika Anuradha Habarakada Liyanage, Angappulige Upasena, Chandra Sirigampala and Hithanadura Janaka de Silva. Factors affecting post-embolization fever and liver failure after trans-arterial chemo-embolization in a cohort without background infective hepatitis- a prospective analysis *BMC Gastroenterology* 2015, **15**:96 doi:10.1186/s12876-015-0329-8

<sup>25</sup> Sanoff HK, Chang Y, Stavas JM, Stürmer T, Lund J. Effectiveness of Initial Transarterial Chemoembolization for Hepatocellular Carcinoma Among Medicare Beneficiaries. *J Natl Compr Canc Netw*. 2015 Sep; **13**(9):1102-10. DOI

<sup>26</sup> Massmann A, Rodt T, Marquardt S, Seidel R, Thomas K, Wacker F, Richter GM, Kauczor HU, Bücker A, Pereira PL, Sommer CM. Transarterial chemoembolization (TACE) for colorectal liver metastases-current status and critical review. *Langenbecks Arch Surg*. 2015 Aug; **400**(6):641-59. doi: 10.1007/s00423-015-1308-9. Epub 2015 Jun 19.

<sup>27</sup> Czuczwar P, Woźniak S, Szkodziak P, Woźniakowska E, Paszkowski M, Wrona W, Milart P, Paszkowski T, Popajewski M. Predicting the results of uterine artery embolization: correlation between initial intramural fibroid volume and percentage volume decrease. *Prz Menopauzalny*. 2014 Sep; **13**(4):247-52. doi: 10.5114/pm.2014.45001. Epub 2014 Sep 9.

<sup>28</sup> Renumathy Dhanasekaran, Alpna Limaye, and Roniel Cabrera. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide

epidemiology, risk factors, diagnosis, and therapeutics. *Hepat Med.* 2012; 4: 19–37. Published online 2012 May 8. doi:10.2147/HMER.S16316; PMID: PMC3846594

<sup>29</sup> Andrea Mancuso and Giovanni Perricone. Hepatocellular Carcinoma and Liver Transplantation: State of the Art. *J Clin Transl Hepatol.* 2014 Sep; 2(3): 176–181. Published online 2014 Sep 15. doi:10.14218/JCTH.2014.00013, PMID: PMC4521243

<sup>30</sup> Alan P. Venook, Christos Papandreou, Junji Furuse and Laura Ladrón de Guevara. The Incidence and Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma: A Global and Regional Perspective. *The Oncologist* November 2010 vol. 15 Supplement 4 5-13. doi: 10.1634/theoncologist.2010-S4-05

<sup>31</sup> Renumathy Dhanasekaran, Alpna Limaye, Roniel Cabrera. Hepatocellular carcinoma: current trends in worldwide epidemiology, risk factors, diagnosis, and therapeutics. *Hepat Med.* 2012; 4: 19–37. Published online 2012 May 8. doi:10.2147/HMER.S16316  
PMCID: PMC3846594

<sup>32</sup> Johannes Lammer, Katarina Malagari, Thomas Vogl, Frank Pilleul, Alban Denys, Anthony Watkinson, Michael Pitton, Geraldine Sergeant, Thomas Pfammatter, Sylvain Terraz, Yves Benhamou, Yves Avajon, Thomas Gruenberger, Maria Pomoni, Herbert Langenberger, Marcus Schuchmann, Jerome Dumortier, Christian Mueller, Patrick Chevallier, Riccardo Lencioni. Prospective Randomized Study of Doxorubicin-Eluting-Bead Embolization in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: Results of the PRECISION V Study. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2010 Feb; 33(1): 41–52. Published online 2009 Nov 12. doi: 10.1007/s00270-009-9711-7 PMID: PMC2816794

<sup>33</sup> Olthoff KM.: Surgical options for hepatocellular carcinoma: resection and transplantation. *Liver Transpl Surg* 4(5 suppl 1):S98–S104, 1998

<sup>34</sup> <http://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/anderekrebsarten/leberkrebs/definition-und-haeufigkeit.html>

<sup>35</sup> Yulan Wang, Tianxing Deng, Li Zeng, Weiqing Chen. The efficacy and safety of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Hepatology Research* 2015 Aug 11  
doi: 10.1111/hepr.12568

<sup>36</sup> Liaw, Y.F., et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *NEngl J Med*, 2004. 351(15): p. 1521-32, DOI: 10.1056/NEJMoa033364

<sup>37</sup> Papatheodoridis, G.V., et al. Incidence of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis B patients receiving nucleos(t)ide therapy: a systematic review. *J Hepatol*, 2010. 53(2): p. 348-56 doi: 10.1016/j.jhep.2010.02.035. Epub 2010 Apr 27

<sup>38</sup> Veldt, B.J., et al. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med*, 2007. 147(10):p. 677-84, doi:10.7326/0003-4819-147-10-200711200-00003

<sup>39</sup> Morgan, T.R., et al. Outcome of sustained virological responders with histologically advanced chronic hepatitis C. *Hepatology*, 2010. 52(3): p. 833-44, doi: 10.1002/hep.23744

<sup>40</sup> Marrero, J.A., et al. NAFLD may be a common underlying liver disease in patients with hepatocellular carcinoma in the United States. *Hepatology*, 2002. 36(6): p. 1349-54.

<sup>41</sup> Davila, J.A., et al. Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. *Gut*, 2005. 54(4): p. 533-9. doi:10.1136/gut.2004.052167 PMID: 15753540; PMID: PMC1774454

<sup>42</sup> Starley, B.Q., C.J. Calcagno, and S.A. Harrison. Nonalcoholic fatty liver disease and hepatocellular carcinoma: a weighty connection. *Hepatology*, 2010. 51(5): p. 1820-32 doi: 10.1002/hep.23594

<sup>43</sup> Musso, G., et al., A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*, 2010. 52(1): p. 79-104 DOI: 10.1002/hep.23623

<sup>44</sup> Leitlinienprogramm Onkologie: Diagnostik und Therapie des hepatozellulären Karzinoms Version 1.0 – Mai 2013 AWM-Registernummer: 032/053OL (Seite 33) [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/032-053OL\\_S3\\_Hepatozellul%C3%A4res\\_Karzinom\\_Diagnostik\\_Therapie\\_2013-05.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/032-053OL_S3_Hepatozellul%C3%A4res_Karzinom_Diagnostik_Therapie_2013-05.pdf)

- <sup>45</sup> Nkontchou, G., et al. Insulin resistance, serum leptin, and adiponectin levels and outcomes of viral hepatitisC-cirrhosis. *J Hepatol*, 2010. **53**(5): p. 827-33 doi: 10.1016/j.jhep.2010.04.035. Epub 2010 Jul 14.
- <sup>46</sup> Bruix, J. and M. Sherman. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology*, 2011. **53**(3): p. 1020-2 doi: 10.1002/hep.24199.
- <sup>47</sup> Andrea Mancuso, Giovanni Perricone. Hepatocellular Carcinoma and Liver Transplantation: State of the Art *J Clin Transl Hepatol*. 2014 Sep; **2**(3): 176–181. Published online 2014 Sep 15. doi:10.14218/JCTH.2014.00013; PMCID: PMC4521243
- <sup>48</sup> Hollebecque, A., et al. Safety and efficacy of sorafenib in hepatocellular carcinoma: the impact of the Child-Pugh score. *Aliment Pharmacol Ther*, 2011. **34**(10): p. 1193-201. doi:10.1111/j.13652036.2011.04860.x.Epub2011Sep29.
- <sup>49</sup> Mazzaferro, V., et al. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *New England Journal Medical*, 1996. **334**(11): p. 693-9. DOI: 10.1056/NEJM199603143341104
- <sup>50</sup> Yao, F.Y. et al. Excellent outcome following down-staging of hepatocellular carcinoma prior to liver transplantation: an intention-to-treat analysis. *Hepatology*, 2008. **48**(3): p. 819-27 doi: 10.1002/hep.22412.
- <sup>51</sup> Graziadei, I.W., et al. Chemoembolization followed by liver transplantation for hepatocellular carcinoma impedes tumor progression while on the waiting list and leads to excellent outcome. *Liver Transpl*, 2003. **9**(6): p. 557-63. PMID: 12783395 DOI:10.1053/jlts.2003.50106
- <sup>52</sup> Chapman, W.C., et al. Outcomes of neoadjuvant transarterial chemoembolization to downstage hepatocellular carcinoma before liver transplantation. *Ann Surg*, 2008. **248**(4): p. 617-25 doi: 10.1097/SLA.0b013e31818a07d4.
- <sup>53</sup> Yulan Wang, Tianxing Deng, Li Zeng, Weiqing Chen. The efficacy and safety of radiofrequency ablation and transcatheter arterial chemoembolization for treatment of hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Hepatol Research* 2015, Volume 46, Issue 1 January 2016, Pages 58–71; doi: 10.1111/hepr.12568
- <sup>54</sup> Majno, P.E., et al. Influence of preoperative transarterial lipiodol chemoembolization on resection and transplantation for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Ann Surg*, 1997. **226**(6): p. 688-701; discussion 701-3, PMCID: PMC1191140
- <sup>55</sup> Peng Wang, Lili Sheng, Guoxiang Wang, Heping Wang, Xinyu Huang, Xiaoxing Yan, Xiaohua Yang, Renguang Pei. Association of transarterial chemoembolization with survival in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Molecular and Clinical Oncology* 07.01.2014 **2**(2):203- 206. doi: 10.3892/mco.2014.239
- <sup>56</sup> Malvezzi M, Bertuccio P, Levi F, La Vecchia C, Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2014. *Ann Oncol* **25**(8): 1650–1656, doi: 10.1093/annonc/mdu138 First published online: April 23, 2014
- <sup>57</sup> [http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/base\\_C18\\_\\_G.pdf](http://www.tumorregister-muenchen.de/facts/base/base_C18__G.pdf), S.4
- <sup>58</sup> Gemma Binefa, Francisco Rodríguez-Moranta, Àlex Teule, Manuel Medina-Hayas. Colorectal cancer: From prevention to personalized medicine. *World J Gastroenterol*. 2014 Jun 14; **20**(22): 6786–6808. Published online 2014 Jun 14. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6786; PMCID: PMC4051918
- <sup>59</sup> Marwan G. Fakih. Metastatic Colorectal Cancer: Current State and Future Directions. *Journal of Clinical Oncology* 2015; **33**(27): 1809-1824 , doi: 10.1200/JCO.2014.59.7633
- <sup>60</sup> Malvezzi M, Bertuccio P, Levi F, La Vecchia C, Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2014. *Ann Oncol* **25**(8): 1650–1656 doi: 10.1093/annonc/mdu138 First published online: April 23, 2014
- <sup>61</sup> Vogl TJ, Zangos S, Eichler K, Yakoub D and Nabil M: Colorectal liver metastases: regional chemotherapyvia transarterialchemoembolization (TACE) and hepatic chemoperfusion: an update. *Eur Radiol* **17**(4): 1025-1034, 2007, DOI 10.1007/s00330-006-0372-5
- <sup>62</sup> [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/021-007OLI\\_S3\\_KRK\\_2014-08.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-007OLI_S3_KRK_2014-08.pdf) (p.96)
- <sup>63</sup> Nicola Lawrence, Victoria Hinder, Melissa Murray, Jerome Macapagal, Paul Thompson, Katrina Sharples and Michael Findlay. Transient elevation in serum carcinoembryonic antigen while on adjuvant chemotherapy for colon cancer: Is this of prognostic importance? *Asia Pac J Clin Oncol* 2015, doi: 10.1111/ajco.12402

- <sup>64</sup> [http://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/021-007OLl\\_S3\\_KRK\\_2014-08.pdf](http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/021-007OLl_S3_KRK_2014-08.pdf)(p. 150-151)
- <sup>65</sup> Levy, M., et al., Tumor markers in staging and prognosis of colorectal carcinoma. *Neoplasma*, 2008. **55**(2): 138-42, PMID: 18237252
- <sup>66</sup> Townsend, A., T. Price, and C. Karapetis. Selective internal radiation therapy for liver metastases from colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2009 Oct 7, (4):CD007045, doi: 10.1002/14651858.CD007045.pub2
- <sup>67</sup> Robert C. G. Martin II MD, PhD, Charles R. Scoggins MD, MBA, Marshall Schreeder MD, William S. Rilling MD, Christopher J. Lairg MD, Clifton M. Tatum MD, Lawrence R. Kelly MD, Ricardo D. Garcia-Monaco MD, Vivek R. Sharma MD, Todd S. Crocenzi MD and Steven M. Strasberg MD. Randomized controlled trial of irinotecan drug-eluting beads with simultaneous FOLFOX and bevacizumab for patients with unresectable colorectal liver-limited metastasis. *Cancer* 2015, 15; **121**(20):3649-58 doi: 10.1002/cncr.29534, PMID: 26149602
- <sup>68</sup> Shiow-Ching Shun, Chien-Hung Chen, Jin-Chuan Sheu, Ja-Der Liang, Jyh-Chin Yang, Yeur-Hur Lai. Quality of Life and Its Associated Factors in Patients with Hepatocellular Carcinoma Receiving One Course of Transarterial Chemoembolization Treatment: A Longitudinal Study. *Oncologist*. 2012 May; **17**(5): 732–739. Published online 2012 Apr 17. doi:10.1634/theoncologist.2011-0368 PMID: PMC3360913
- <sup>69</sup> [http://radiologie.uniklinikum-leipzig.de/radiologie.site.postext.tumorbehandlung,a\\_id,594.html](http://radiologie.uniklinikum-leipzig.de/radiologie.site.postext.tumorbehandlung,a_id,594.html)
- <sup>70</sup> Antonio Facciorusso, Raffaele Licinio, Nicola Muscatiello, Alfredo Di Leo, and Michele Barone. Transarterial chemoembolization: Evidences from the literature and applications in hepatocellular carcinoma patients. *World J Hepatol*. 2015 Aug 8; **7**(16): 2009–2019. Published online 2015 Aug 8. doi: 10.4254/wjh.v7.i16.2009, PMID: PMC4528274
- <sup>71</sup> Huang K, Zhou Q, Wang R, Cheng D, Ma Y. Doxorubicin-eluting beads versus conventional transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Journal Gastroenterolog Hepatol* 2104 May; **29**(5):920-5. Doi: 10.1111/jgh.12439
- <sup>72</sup> Dr. Sylvia Bochum. MedScape Deutschland Onkologie Chemoembolisation bei Leberkrebs: Zytostatikum in Partikeln verlängert das Überleben; 13. Januar 2014
- <sup>73</sup> Roman Kloeckner, Arndt Weinmann, Friederike Prinz, Daniel Pinto dos Santos, Christian Ruckes, Christoph Dueber, and Michael Bernhard Pitton. Conventional transarterial chemoembolization versus drug-eluting bead transarterial chemoembolization for the treatment of hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*. 2015; 15: 465. Published online 2015 Jun 10. doi:10.1186/s12885-015-1480-x PMID: PMC4460638
- <sup>74</sup> Bargellini I, Florio F, Golfieri R, Grosso M, Lauretti DL, Cioni R. Trends in utilization of transarterial treatments for hepatocellular carcinoma: results of a survey by the Italian Society of Interventional Radiology. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2014; **37**(2):438–44. doi: 10.1007/s00270-013-0656-5
- <sup>75</sup> Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology*. 2003; **37**(2):429–442. DOI: 10.1053/jhep.2003.50047
- <sup>76</sup> Yin L, Li H, Li AJ, Lau WY, Pan ZY, Lai EC, Wu MC, Zhou WP. Partial hepatectomy vs. transcatheter arterial chemoembolization for resectable multiple hepatocellular carcinoma beyond Milan Criteria: a RCT. *J Hepatol*. 2014; **61**(1):82–88. doi: 10.1016/j.jhep.2014.03.012. Epub 2014 Mar 17
- <sup>77</sup> Lammer J, Malagari K, Vogl T, Pilleul F, Denys A, Watkinson A, Pitton M, Sergeant G, Pfammatter T, Terraz S, Benhamou Y, Avajon Y, Gruenberger T, Pomoni M, Langenberger H, Schuchmann M, Dumortier J, Mueller C, Chevallier P, Lencioni R. Prospective randomized study of doxorubicin-eluting-bead embolization in the treatment of hepatocellular carcinoma: results of the PRECISION V study. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2010 Feb; **33**(1):41-52. doi: 10.1007/s00270-009-9711-7. Epub 2009 Nov 12.
- <sup>78</sup> Varela M, Real MI, Burrel M, Forner A, Sala M, Brunet M, Ayuso C, Castells L, Montaña X, Llovet JM, Bruix J. Chemoembolization of hepatocellular carcinoma with drug eluting beads: efficacy and doxorubicin pharmacokinetics. *J Hepatol*. 2007 Mar; **46**(3):474-81. Epub 2006 Nov 29. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2006.10.020>

- <sup>79</sup> Arabi M, BenMousa A, Bzeizi K, Garad F, Ahmed I, Al-Otaibi M. Arabi M, BenMousa A, Bzeizi K, Garad F, Ahmed I, Al-Otaibi M. Doxorubicin-loaded drug-eluting beads versus conventional transarterial chemoembolization for nonresectable hepatocellular carcinoma. *Saudi J Gastroenterol*. 2015 May-Jun;**21**(3):175-80. doi: 10.4103/1319-3767.157571.
- <sup>80</sup> Johannes Lammer, Katarina Malagari, Thomas Vogl, Frank Pilleul, Alban Denys, Anthony Watkinson, Michael Pitton, Geraldine Sergeant, Thomas Pfammatter, Sylvain Terraz, Yves Benhamou, Yves Avajon, Thomas Gruenberger, Maria Pomoni, Herbert Langenberger, Marcus Schuchmann, Jerome Dumortier, Christian Mueller, Patrick Chevallier, Riccardo Lencioni. „Prospective Randomized Study of Doxorubicin-Eluting-Bead Embolization in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma: Results of the PRECISION V Study“. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2010 Feb; **33**(1): 41–52. Published online 2009 Nov 12. doi:10.1007/s00270-009-9711-7
- <sup>81</sup> Adriana A Miculescu, Martin Svahn, and Torsten E Gordh. Evaluation of the protein biomarkers and the analgesic response to systemic methylene blue in patients with refractory neuropathic pain: a double-blind, controlled study. *J Pain Res*. 2015; 8: 387–397. Published online 2015 Jul 15. doi:10.2147/JPR.S84685 PMID: PMC4509536
- <sup>82</sup> Peng B, Pang X, Wu Y, Zhao C, Song X. A randomized placebo-controlled trial of intradiscal methylene blue injection for the treatment of chronic discogenic low back pain. *Pain*. 2010;**149**(1):124–129. doi: 10.1016/j.pain.2010.01.021. Epub 2010 Feb 18
- <sup>83</sup> Wiklund L, Basu S, Miculescu A, Wiklund P, Ronquist G, Sharma HS. Neuro- and cardioprotective effects of blockade of nitric oxide action by administration of methylene blue. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1122:231–244. DOI:10.1196/annals.1403.016
- <sup>84</sup> Rojas JC, Bruchey AK, Gonzalez-Lima F. Neurometabolic mechanisms for memory enhancement and neuroprotection of methylene blue. *Prog Neurobiol*. 2012;**96**(1):32–45. doi: 10.1016/j.pneurobio.2011.10.007. Epub 2011 Nov 3.
- <sup>85</sup> Baoxu Pang, Johann de Jong, Xiaohang Qiao, Lodewyk F A Wessels, Jacques Neefjes. Chemical profiling of the genome with anti-cancer drugs defines target specificities. *Nature Chemical Biology*2015;**11**(7), 472–480. doi: 10.1038/nchembio.1811. Epub 2015 May 11.
- <sup>86</sup> Plosker GL, Faulds D. Epirubicin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in cancer chemotherapy. *Drugs*. 1993 May;**45**(5):788-856. PMID: 7686469
- <sup>87</sup> Norimichi Koitabashi,MD, Yoshiaki Ohyama,MD, Rieko Tateno,MD, Masashi Arai,MD, Nana Rokutanda,MD, Jun Horiguchi,MD, and Masahiko Kurabayashi,MD. Reversible Cardiomyopathy After Epirubicin Administration. *Int Heart Journal* 2015;**56**(4):466-8. doi: 10.1536/ihj.14-416. Epub 2015 Jun 24
- <sup>88</sup> [http://flexikon.doccheck.com/de/Epirubicinhttps://www.ribosepharm.de/x/media/pdf/fach/riboepi/standardinfo\\_riboepi.pdf](http://flexikon.doccheck.com/de/Epirubicinhttps://www.ribosepharm.de/x/media/pdf/fach/riboepi/standardinfo_riboepi.pdf)
- <sup>89</sup> Benny J. Evison, Brad E. Sleebs, Keith G. Watson, Don R. Phillips and Suzanne M. Cutts. Mitoxantrone, More than Just Another Topoisomerase II Poison. *Medical Research Review* March 2016; **36**(2):248-299 ; Article first published online: 19 AUG 2015; DOI:10.1002/med.21364
- <sup>90</sup> ©2013 Merit Medical Systems, Inc. Alle Rechte vorbehalten. MR13-012 Rev. A 05/13 402936005/A ID 050713; HepaSphere Stabilitätsdaten Doxorubicin
- <sup>91</sup> Gonzalez MV1, Tang Y, Phillips GJ, Lloyd AW, Hall B, Stratford PW, Lewis AL. Doxorubicin eluting beads-2: methods for evaluating drug elution and in-vitro:in-vivo correlation. *J Mater Sci Mater Med*. 2008 Feb;**19**(2):767-75. Epub 2007 Jul 25. PMID: 17653626 DOI 10.1007/s10856-006-0040-y
- <sup>92</sup> Egelund EF, Alsultan A, Peloquin CA. Optimizing the clinical pharmacology of tuberculosis medications. *Clin Pharmacol Ther*. 2015 Oct;**98**(4):387-93. doi: 10.1002/cpt.180. Epub 2015 Jul 22
- <sup>93</sup> Gorla MC, de Paiva MV, Salgueiro VC, Lemos AP, Brandão AP, Vázquez JA, Brandileone MC. Antimicrobial susceptibility of *Neisseria meningitidis* strains isolated from meningitis cases in Brazil from 2006 to 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 Feb;**29**(2):85-9. doi: 10.1016/j.eimc.2010.07.016. Epub 2011 Feb 22.
- <sup>94</sup> Gorla MC , de Paiva MV, Salgueiro VC, Lemos AP, Brandão AP, Vázquez JA, Brandileone MC. Antimicrobial susceptibility of

*Neisseria meningitidis* strains isolated from meningitis cases in Brazil from 2006 to 2008. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 Feb;**29**(2):85-9. doi: 10.1016/j.eimc.2010.07.016. Epub 2011 Feb 22.

<sup>95</sup> Gaude GS, Chaudhury A, Hattiholi J. Drug-induced hepatitis and the risk factors for liver injury in pulmonary tuberculosis patients. *J Family Med Prim Care*. 2015 Apr-Jun;**4**(2):238-43. doi: 10.4103/2249-4863.154661.

<sup>96</sup> <http://flexikon.doccheck.com/de/Rifampicin>  
<http://de.wikipedia.org/wiki/Rifampicin>

<sup>97</sup> Bharathi KN, Natesh TS, Ashwitha Reddy A. Prenatal exposure to anti-tubercular drugs and postnatal effect on growth, development and cognitive ability in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2012 Apr 27;**37**(1):203-9. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.01.004. Epub 2012 Jan 25.

<sup>98</sup> Anthony Lopez, MD, Prof Patrice Cacoub, MD, Prof Iain C Macdougall, MD, Prof Laurent Peyrin-Biroulet, MD. Iron deficiency anaemia. *Lancet* 2015;**387**(10021),907-916

Published Online: 24 August 2015, DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)60865-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)60865-0)

<sup>99</sup> Finberg KE. Regulation of systemic iron homeostasis. *Curr Opin Hematol* 2013. **20**(3):208–214.  
doi:10.1097/MOH.0b013e32835f5a47.

<sup>100</sup> Ningning Zhao and Caroline A. Enns. Iron Transport Machinery of Human Cells: Players and Their Interactions. *Curr Top Mebr*. 2012;**69**:67-93. doi: 10.1016/B978-0-12-394390-3.00003-3.

<sup>101</sup> Elizabeth M. Miller, James F. Collins, Editor. Iron Status and Reproduction in US Women: National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *PLoS One*. 2014; **9**(11): e112216.

Published online 2014 Nov 6. doi:10.1371/journal.pone.0112216. PMCID: PMC4223055

<sup>102</sup> WHO/FAO. Vitamin and mineral requirements in human nutrition. 2<sup>nd</sup> Edition. Geneva (Switzerland): WHO and FAO of the United Nations; 2004. **ISBN**: 92 4 154612 3

<sup>103</sup> Canonne-Hergaux F, Donovan A, Delaby C, Wang HJ, Gros P. Comparative studies of duodenal and macrophage ferroportin proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006 Jan; **290**(1):G156-63. DOI:10.1152/ajpgi.00227.2005

<sup>104</sup> [https://www.sanicare.de/images/ecommerce/01/44/01444696\\_2013-07\\_de\\_o.pdf](https://www.sanicare.de/images/ecommerce/01/44/01444696_2013-07_de_o.pdf) (p.2)

<sup>105</sup> <https://mein.sanofi.de/~media/Import/MySanofi/DE/GralsResources/0900972f80043d90.ashx>

<sup>106</sup> Ward MG, Kariyawasam VC, Mogan SB, Patel KV, Pantelidou M, Sobczyńska-Malefora A, Porté F, Griffin N, Anderson SH, Sanderson JD, Harrington DJ, Irving PM. Prevalence and Risk Factors for Functional Vitamin B12 Deficiency in Patients with Crohn's Disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2015 Dec;**21**(12):2839-4 DOI:10.1097/MIB.0000000000000559

<sup>107</sup> John WR Zinck, Margaret de Groh, and Amanda J MacFarlane. Genetic modifiers of folate, vitamin B-12, and homocysteine status in a cross-sectional study of the Canadian population. *Am J Clin Nutr* June 2015; **101**(6): 1295-1304. First published May 6, 2015, doi: 10.3945/ajcn.115.107219

<sup>108</sup> Dissanayake Mudiyansele Priyantha Udaya Kumara. Ralapanawa, Kushalee Poornima Jayawickreme, Ekanayake Mudiyansele Madhushanka Ekanayake and Widana Arachchilage Thilak Ananda Jayalath.

Case Report B12 deficiency with neurological manifestations in the absence of anaemia Ralapanawa et al. *BMC Res Notes* (2015) **8**:458, DOI 10.1186/s13104-015-1437-9

<sup>109</sup> Alan D Dangour, Elizabeth Allen, Robert Clarke, Diana Elbourne, Astrid E Fletcher, Louise Letley, Marcus Richards, Ken Whyte, Ricardo Uauy, and Kerry Mills. Effects of vitamin B-12 supplementation on neurologic and cognitive function in older people: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr*. 2015 Sep; **102**(3): 639–647. Published online 2015 Jul 1. doi:10.3945/ajcn.115.110775, PMCID: PMC4548176

<sup>110</sup> Rodríguez de Santiago E, Ferre Aracil C, García García de Paredes A, Moreira Vicente VF. Pernicious anemia. From past to present. *Rev Clin Esp*. 2015 Jun-Jul;**215**(5):276-284. doi: 10.1016/j.rce.2014.12.013. Epub 2015 Feb 11.

<sup>111</sup> Jing Zhang, Catherine J. Field, Donna Vine, Lingyun Chen. Intestinal Uptake and Transport of Vitamin B12-loaded Soy Protein



Nanoparticles. *Pharm Res* (2015) **32**:1288- 1303, Published online: 16 October 2014, DOI 10.1007/s11095-014-1533-x

<sup>112</sup> Jan Willem R. Pott. Detection of vitamin B12 deficiency in alcohol abuse. *Acta Ophthalmologica* 2013, **92**(1):76-77, doi: 10.1111/aos.12076

<sup>113</sup> [http://flexikon.doccheck.com/de/Pernizi%C3%B6se\\_An%C3%A4mie](http://flexikon.doccheck.com/de/Pernizi%C3%B6se_An%C3%A4mie)

<sup>114</sup> Howard MR, Turnbull AJ, Morley P, Hollier P, Webb R, Clarke A. A prospective study of the prevalence of undiagnosed celiac disease in laboratory defined iron and folate deficiency. *J Clin Pathol* 2002;**55**(10):754-57, doi:10.1136/jcp.55.10.754

<sup>115</sup> <http://www.ratiopharm.de/paeparate/alle-paeparate-a-z/paeparate/paeparatedaten/detail/backpid-100/buchstabe-v/pzn-8735267.html>; PDF: Beipackzettel Vitamin B12 Ratiopharm

<sup>116</sup> Battat R, Kopylov U, Szilagyi A, Saxena A, Rosenblatt DS, Warner M, Bessissow T, Seidman E, Bitton A. Vitamin B12 deficiency in inflammatory bowel disease: prevalence, risk factors, evaluation, and management. *Inflamm Bowel Dis*. 2014; 2014 Jun;**20**(6):1120-8. doi: 10.1097/MIB.0000000000000024.

<sup>117</sup> Omar A Masri, Jean M Chalhoub, and Ala I Sharara. Role of vitamins in gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol*. 2015 May 7; **21**(17): 5191–5209. Published online 2015 May 7. doi:10.3748/wjg.v21.i17.5191, PMCID: PMC4419060

<sup>118</sup> Sipponen P, Maaroos HI. Chronic gastritis. *Scand J Gastroenterol*. 2015 Jun;**50**(6):657-67. doi: 10.3109/00365521.2015.1019918. Epub 2015 Apr 22.

<sup>119</sup> Dietzfelbinger H, Hubmann M. Hemolytic anemias and vitamin B12 deficiency. *Dtsch Med Wochenschr*. 2015 Aug;**140**(17):1302-12. doi: 10.1055/s-0041-103562. Epub 2015 Aug 25.

<sup>120</sup> Saif-ur-Rehman, Zafar L, Imran T, Ghafoor A, Durrani AA, Ahmad TA. Frequency of intrinsic factor antibody in megaloblastic anaemia. *J Coll Physicians Surg Pak* 2014, Mar; **24**(3): 157-9. doi: 10.3748/JCSP.15.7159

<sup>121</sup> <http://www.ratiopharm.de/paeparate/alle-a-z/paeparate/paeparatedaten/detail/backpid-100/buchstabe-v/pzn-8735264.html>  
PDF: Beipackzettel Vitamin B12 Ratiopharm

# Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Dr. hc. Maximilian Reiser für die freundliche Überlassung des Themas, für seine Unterstützung und Beratung bei der Organisation.

Ich danke auch Herrn Dr. med. Tobias Wagershauser, meinem Betreuer, für die Durchführung und Unterstützung bei den Auswertungen der Messungen. Ohne seine Geduld und die vielen Erklärungen wäre ein Gelingen der Arbeit nicht möglich gewesen.

Großer Dank gebührt auch dem gesamten Team der Abteilung der klinischen Radiologie in Großhadern, dank deren Geduld ich die Messungen während ihrer Arbeitszeiten durchführen konnte.

Ich danke auch meinen tollen Freunden, die mich während des Studiums immer unterstützt und motiviert haben. Durch sie hatte ich wirklich eine tolle Studienzeit, die mir immer in Erinnerung bleiben wird.

Der größte Dank gebührt meinen Eltern, die es mir mit dem Medizinstudium ermöglicht haben, den meiner Meinung nach schönsten Beruf der Welt zu erlernen. Sie haben mich zu jeder Zeit des Studiums tatkräftig unterstützt und hatten bei Fragen und Problemen immer ein offenes Ohr für mich.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Lerch, Kathrin

Ich erkläre hiermit an Eides statt,

dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Untersuchungen an Microcarriern zum Transport von Chemotherapeutika durch das arterielle System“

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 31.01.2019

Kathrin Lerch



